

## Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden in genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen

### Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten Organismen, die im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-Aktivität und eine veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweisen, die genetisch veränderten Organismen, sowie deren Verwendung als Nahrungs- und Futtermittel und zur Herstellung von Ketocarotinoidextrakten.

10

Carotinoide werden de novo in Bakterien, Algen, Pilzen und Pflanzen synthetisiert. Ketocarotinoide, also Carotinoide, die mindestens eine Keto-Gruppe enthalten, wie beispielsweise Astaxanthin, Canthaxanthin, Echinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin sind natürliche Antioxidantien und Pigmente, die von einigen Algen und Mikroorganismen als Sekundärmetabolite produziert werden.

15

Aufgrund ihrer farbgebenden Eigenschaften werden die Ketocarotinoide und insbesondere Astaxanthin als Pigmentierhilfsstoffe in der Tierernährung, insbesondere in der Forellen-, Lachs- und Shrimpszucht verwendet.

20

Die Herstellung von Astaxanthin erfolgt heutzutage größtenteils durch chemische Syntheseverfahren. Natürliche Ketocarotinoide, wie beispielsweise natürliches Astaxanthin, werden heutzutage in biotechnologischen Verfahren in kleinen Mengen durch Kultivierung von Algen, beispielsweise *Haematococcus pluvialis* oder durch Fermentation von gentechnologisch optimierten Mikroorganismen und anschließender Isolierung gewonnen.

25

Ein wirtschaftliches biotechnologisches Verfahren zur Herstellung von natürlichen Ketocarotinoiden ist daher von großer Bedeutung.

30

Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase und die entsprechenden Proteinsequenzen sind aus verschiedenen Organismen isoliert und annotiert worden, wie beispielsweise Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase aus *Agrobacterium aurantiacum* (EP 735 137, Accession NO: D58420), aus *Alcaligenes* sp. PC-1 (EP 735137, Accession NO: D58422), *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille und *Haematococcus pluvialis*, NIES-144 (EP 725137, WO 98/18910 und Lotan et al, FEBS Letters 1995, 364, 125-128, Accession NO: X86782 und D45881), *Paracoccus marcusii* (Accession NO: Y15112), *Synechocystis* sp. Strain PC6803 (Accession NO: NP\_442491), *Bradyrhizobium* sp. (Accession NO: AF218415) und *Nostoc* sp. PCC 7120 (Kaneko et al, DNA Res. 2001,

35

40

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

8(5), 205 - 213; Accession NO: AP003592, BAB74888).

5 EP 735 137 beschreibt die Herstellung von Xanthophyllen in Mikroorganismen, wie beispielsweise *E. coli* durch Einbringen von Ketolase-Genen (*crtW*) aus *Agrobacterium aurantiacum* oder *Alcaligenes sp. PC-1* in Mikroorganismen.

10 Aus EP 725 137, WO 98/18910, Kajiwara et al. (Plant Mol. Biol. 1995, 29, 343-352) und Hirschberg et al. (FEBS Letters 1995, 364, 125-128) ist es bekannt, Astaxanthin durch Einbringen von Ketolase-Genen aus *Haematococcus pluvialis* (*crtW*, *crtO* oder *bkt*) in *E. coli* herzustellen.

15 Hirschberg et al. (FEBS Letters 1997, 404, 129-134) beschreiben die Herstellung von Astaxanthin in *Synechococcus* durch Einbringen von Ketolase-Genen (*crtO*) aus *Haematococcus pluvialis*. Sandmann et al. (Photochemistry and Photobiology 2001, 73(5), 551-55) beschreiben ein analoges Verfahren, das jedoch zur Herstellung von Canthaxanthin führt und nur Spuren Astaxanthin liefert.

20 WO 98/18910 und Hirschberg et al. (Nature Biotechnology 2000, 18(8), 888-892) beschreiben die Synthese von Ketocarotinoiden in Nektarien von Tabakblüten durch Einbringen des Ketolase-Gens aus *Haematococcus pluvialis* (*crtO*) in Tabak.

25 WO 01/20011 beschreibt ein DNA Konstrukt zur Produktion von Ketocarotinoiden, insbesondere Astaxanthin, in Samen von Ölsaatzpflanzen wie Raps, Sonnenblume, Sojabohne und Senf unter Verwendung eines Samen-spezifischen Promotors und einer Ketolase aus *Haematococcus pluvialis*.

30 Alle im Stand der Technik beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden und insbesondere die beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Astaxanthin weisen den Nachteil auf, dass einerseits die Ausbeute noch nicht befriedigend ist und andererseits die transgenen Organismen eine große Menge an hydroxylierten Nebenprodukten, wie beispielsweise Zeaxanthin und Adonixanthin liefern.

35 Der Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen zur Verfügung zu stellen, bzw. weitere genetisch veränderte, nicht-humane Organismen, die Ketocarotinoide herstellen, zur Verfügung zu stellen, die die vorstehend beschriebenen Nachteile des Standes der Technik in geringerem Maße oder nicht mehr aufweisen oder die gewünschten Ketocarotenoide in höheren Ausbeuten liefern.

Demgemäß wurde ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden gefunden, indem man genetisch veränderte, nicht-humane Organismen kultiviert, die im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-Aktivität und eine veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweisen, und die veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

10 Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Ketolase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp keine Ketolase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp verursachte Ketolase-Aktivität“ verstanden.

15 Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Ketolase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp eine Ketolase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp erhöhte Ketolase-Aktivität“ verstanden.

20 Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten  $\beta$ -Cyclase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp keine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp verursachte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität“ verstanden.

25 Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten  $\beta$ -Cyclase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp erhöhte  $\beta$ -Cyclase -Aktivität“ verstanden.

30 Die erfindungsgemäßen, nicht-humanen Organismen wie beispielsweise Mikroorganismen oder Pflanzen sind vorzugsweise als Ausgangsorganismen natürlicherweise in der Lage, Carotinoide wie beispielsweise  $\beta$ -Carotin oder Zeaxanthin herzustellen, oder können durch genetische Veränderung, wie beispielsweise Umregulierung von Stoffwechselwegen oder Komplementierung in die Lage versetzt werden, Carotinoide wie beispielsweise  $\beta$ -Carotin oder Zeaxanthin herzustellen.

35 Einige Organismen sind als Ausgangs- oder Wildtyporganismen bereits in der Lage, Ketocarotinoidewie beispielsweise Astaxanthin oder Canthaxanthin herzustellen. Diese Organismen, wie beispielsweise *Haematococcus pluvialis*, *Paracoccus marcusii*, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Bacillus circulans*, *Chlorococcum*, *Phaffia rhodozyma*, *Adonisröschen*, *Neochloris wimmeri*, *Protosiphon botryoides*, *Scotiellopsis oocystiformis*, *Scenedesmus vacuolatus*, *Chlorella zofingiensis*, *Ankistrodesmus braunii*, *Euglena sanguinea* und *Bacillus atrophaeus* weisen bereits als Ausgangs- oder Wildtyporga-



nismus eine Ketolase-Aktivität und eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität auf.

Unter dem Begriff "Wildtyp" wird erfindungsgemäß der entsprechende Ausgangsorganismus verstanden.

5

Je nach Zusammenhang kann unter dem Begriff "Organismus" der nicht-humane Ausgangsorganismus (Wildtyp) oder ein erfindungsgemäßer, genetisch veränderter, nicht-humaner Organismus oder beides verstanden werden.

- 10 Vorzugsweise und insbesondere in Fällen, in denen die Pflanze oder der Wildtyp nicht eindeutig zugeordnet werden kann, wird unter "Wildtyp" für die Erhöhung oder Verursachung der Ketolase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung oder Verursachung der Hydroxylase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung oder Verursachung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der
- 15 HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Isopen-
- 20 tenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Phytoen-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene
- 25 Erhöhung der Phytoen-Desaturase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der crtISO-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der FtsZ-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der MinD-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Reduzierung der  $\epsilon$ -Cyclase-Aktivität und für die nachstehend
- 30 beschriebene Reduzierung der endogenen  $\beta$ -Hydroxylase Aktivität und die Erhöhung des Gehalts an Ketocarotinoiden jeweils ein Referenzorganismus verstanden.

Dieser Referenzorganismus ist für Mikroorganismen, die bereits als Wildtyp eine Ketolase Aktivität aufweisen, vorzugsweise *Haematococcus pluvialis*.

35

Dieser Referenzorganismus ist für Mikroorganismen, die als Wildtyp keine Ketolase Aktivität aufweisen, vorzugsweise *Blakeslea*.

- Dieser Referenzorganismus ist für Pflanzen, die bereits als Wildtyp eine Ketolase-
- 40 Aktivität aufweisen, vorzugsweise *Adonis aestivalis*, *Adonis flammeus* oder *Adonis*

*annuus*, besonders bevorzugt *Adonis aestivalis*.

- Dieser Referenzorganismus ist für Pflanzen, die als Wildtyp keine Ketolase-Aktivität in Blütenblättern aufweisen, vorzugsweise *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Tagetes lucida*,  
5 *Tagetes pringlei*, *Tagetes palmeri*, *Tagetes minuta* oder *Tagetes campanulata*, besonders bevorzugt *Tagetes erecta*.

Unter Ketolase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Ketolase verstanden.

- 10 Unter einer Ketolase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, am, gegebenenfalls substituierten,  $\beta$ -Ionon-Ring von Carotinoiden eine Keto-Gruppe einzuführen.

- Insbesondere wird unter einer Ketolase ein Protein verstanden, das die enzymatische  
15 Aktivität aufweist,  $\beta$ -Carotin in Canthaxanthin umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Ketolase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Ketolase umgesetzte Menge  $\beta$ -Carotin bzw. gebildete Menge Canthaxanthin  
20 verstanden.

- In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangsorganismen nicht-humane Organismen verwendet, die bereits als Wildtyp oder Ausgangsorganismus eine Ketolase-Aktivität aufweisen, wie beispielsweise *Haematococcus pluvialis*, *Paracoccus marcusii*, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Bacillus circulans*, *Chlorococcum*, *Phaffia rhodozyma*, *Adonisröschen*, *Neochloris wimmeri*, *Protosiphon botryoides*, *Scotiellopsis oocystiformis*, *Scenedesmus vacuolatus*, *Chlorella zofingiensis*, *Ankistrodesmus braunii*, *Euglena sanguinea* oder *Bacillus atrophaeus*. In dieser Ausführungsform bewirkt die genetische Veränderung eine Erhöhung der Ketolase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp oder Ausgangsorganismus.  
25

- 30 Bei einer erhöhten Ketolase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Ketolase die umgesetzte Menge  $\beta$ -Carotin bzw. die gebildete Menge Canthaxanthin erhöht.

- 35 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Ketolase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Ketolase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Ketolase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 5 Die Bestimmung der Ketolase-Aktivität in Pflanzen- oder Mikroorganismenmaterial erfolgt in Anlehnung an die Methode von Fraser et al., (J. Biol. Chem. 272(10): 6128-6135, 1997). Die Ketolase-Aktivität in pflanzlichen oder Mikroorganismus-Extrakten wird mit den Substraten  $\beta$ -Carotin und Canthaxanthin in Gegenwart von Lipid (Sojalecithin) und Detergens (Natriumcholat) bestimmt. Substrat/Produkt-Verhältnisse aus den
- 10 Ketolase-Assays werden mittels HPLC ermittelt.

- Die Erhöhung der Ketolase-Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Translations- und Proteinebene oder durch Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure
- 15 kodierend eine Ketolase gegenüber dem Wildtyp, beispielsweise durch Induzierung des Ketolase-Gens durch Aktivatoren oder durch Einbringen von Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase in den Organismus.

- Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase wird
- 20 erfindungsgemäß in dieser Ausführungsform auch die Manipulation der Expression der Organismus eigenen endogenen Ketolasen verstanden. Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Promotor DNA-Sequenz für Ketolase kodierende Gene erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine veränderte oder vorzugsweise erhöhte Expressionsrate mindestens eines endogenen Ketolase Gens zur Folge hat, kann
- 25 durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.

- Es ist wie vorstehend beschrieben möglich, die Expression mindestens einer endogenen Ketolase durch die Applikation exogener Stimuli zu verändern. Dies kann durch besondere physiologische Bedingungen, also durch die Applikation von Fremdstanzen erfolgen.
- 30

- Des weiteren kann eine erhöhte Expression mindestens eines endogenen Ketolase-Gens dadurch erzielt werden, dass ein im Wildtyporganismus nicht vorkommendes oder modifiziertes Regulator-Protein mit dem Promotor dieser Gene in Wechselwirkung
- 35 tritt.

- Solch ein Regulator kann ein chimäres Protein darstellen, welches aus einer DNA-Bindedomäne und einer Transkriptionsaktivator-Domäne besteht, wie beispielsweise in
- 40 WO 96/06166 beschrieben.

In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Ketolase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp durch die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

- 5 In einer weiter bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase durch Einbringen von Nukleinsäuren, die Ketolasen kodieren, in den Organismus.

- 10 In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres Ketolase-Gen vor. In dieser Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, auf.

- 15 In einer anderen, bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangsorganismen nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wie beispielsweise *Blakeslea*, *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes lucida*, *Tagetes minuta*, *Tagetes pringlei*, *Tagetes palmeri* und *Tagetes campanulata*.

- 20 In dieser, bevorzugten Ausführungsform verursacht die genetische Veränderung die Ketolase-Aktivität in den Organismen. Der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus weist somit in dieser, bevorzugten Ausführungsform im Vergleich zum genetisch nicht veränderten Wildtyp eine Ketolase-Aktivität auf und ist somit vorzugsweise in der Lage, transgen eine Ketolase zu exprimieren.
- 25

- In dieser bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase analog zu der vorstehend beschriebenen Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase vorzugsweise durch Einbringen von Nukleinsäuren, die Ketolasen kodieren in den Ausgangsorganismus.
- 30

- Dazu kann in beiden Ausführungsformen prinzipiell jedes Ketolase-Gen, also jede Nukleinsäuren die eine Ketolase kodiert verwendet werden.

- 35 Alle in der Beschreibung erwähnten Nukleinsäuren können beispielsweise eine RNA-, DNA- oder cDNA-Sequenz sein.

- Bei genomischen Ketolase-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall, dass die Wirtsorganismus nicht in der Lage ist oder nicht in
- 40

die Lage versetzt werden kann, die entsprechenden Ketolase zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs zu verwenden.

- 5 Beispiele für Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase und die entsprechenden Ketolasen, die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden können sind beispielsweise Sequenzen aus

10 *Haematococcus pluvialis*, insbesondere aus *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille (Accession NO: X86782; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 3, Protein SEQ ID NO: 4),

*Haematococcus pluvialis*, NIES-144 (Accession NO: D45881; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 35, Protein SEQ ID NO: 36),

- 15 *Agrobacterium aurantiacum* (Accession NO: D58420; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 37, Protein SEQ ID NO: 38),

*Alicyclobacillus spec.* (Accession NO: D58422; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 39, Protein SEQ ID NO: 40),

20

*Paracoccus marcusii* (Accession NO: Y15112; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 41, Protein SEQ ID NO: 42).

- 25 *Synechocystis* sp. Strain PC6803 (Accession NO: NP442491; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 43, Protein SEQ ID NO: 44).

*Bradyrhizobium* sp. (Accession NO: AF218415; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 45, Protein SEQ ID NO: 46).

- 30 *Nostoc* sp. Strain PCC7120 (Accession NO: AP003592, BAB74888; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 47, Protein SEQ ID NO: 48).

*Haematococcus pluvialis*

- 35 (Accession NO: AF534876, AAN03484; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 49, Protein : SEQ ID NO: 50)

*Paracoccus* sp. MBIC1143

(Accession NO: D58420, P54972; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 51, Protein : SEQ ID NO: 52)

40

*Brevundimonas aurantiaca*

(Accession NO: AY166610, AAN86030; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 53, Protein : SEQ ID NO: 54)

5 *Nodularia spumigena* NSOR10

(Accession NO: AY210783, AAO64399; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 55, Protein : SEQ ID NO: 56)

*Nostoc punctiforme* ATCC 29133

10 (Accession NO: NZ\_AABC01000195, ZP\_00111258; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 57, Protein : SEQ ID NO: 58)

*Nostoc punctiforme* ATCC 29133

15 (Accession NO: NZ\_AABC01000196; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 59, Protein : SEQ ID NO: 60)

*Deinococcus radiodurans* R1

(Accession NO: E75561, AE001872; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 61, Protein : SEQ ID NO: 62),

20

*Synechococcus* sp. WH 8102,

Nukleinsäure: Acc.-No. NZ\_AABD01000001, Basenpaar 1,354,725-1,355,528 (SEQ ID NO: 75), Protein: Acc.-No. ZP\_00115639 (SEQ ID NO: 76) (als putatives Protein. anno-

25

oder von diesen Sequenzen abgeleitete Sequenzen, wie beispielsweise

die Ketolasen der Sequenz SEQ ID NO: 64 oder 66 und die entsprechenden kodierenden Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 63 oder SEQ ID NO: 65, die beispielsweise  
30 durch Variation/Mutation aus der Sequenz SEQ ID NO: 58 bzw. SEQ ID NO: 57 hervorgehen,

die Ketolasen der Sequenz SEQ ID NO: 68 oder 70 und die entsprechenden kodierenden Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 67 oder SEQ ID NO: 69, die beispielsweise  
35 durch Variation/Mutation aus der Sequenz SEQ ID NO: 60 bzw. SEQ ID NO: 59 hervorgehen, oder

die Ketolasen der Sequenz SEQ ID NO: 72 oder 74 und die entsprechenden kodierenden Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 71 oder SEQ ID NO: 73, die beispielsweise  
40 durch Variation bzw. Mutation aus der Sequenz SEQ ID NO: 76 bzw. SEQ ID NO: 75

hervorgehen.

Weitere natürliche Beispiele für Ketolasen und Ketolase-Gene, die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden können, lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, durch Identitätsvergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit den vorstehend beschriebenen Sequenzen und insbesondere mit den Sequenzen SEQ ID NO: 4 und/oder 48 und/oder 58 und/oder 60 leicht auffinden.

10

Weitere natürliche Beispiele für Ketolasen und Ketolase-Gene lassen sich weiterhin ausgehend von den vorstehend beschriebenen Nukleinsäuresequenzen, insbesondere ausgehend von den Sequenzen SEQ ID NO: 3 und/oder 47 und/oder 57 und/oder 59 aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, durch Hybridisierungstechniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

15

Die Hybridisierung kann unter moderaten (geringe Stringenz) oder vorzugsweise unter stringenten (hohe Stringenz) Bedingungen erfolgen.

Solche Hybridisierungsbedingungen, die für alle Nukleinsäuren der Beschreibung gelten, sind beispielsweise bei Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., in: Molecular Cloning (A Laboratory Manual), 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Seiten 9.31-9.57 oder in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6 beschrieben.

25

Beispielhaft können die Bedingungen während des Waschschrilles ausgewählt sein aus dem Bereich von Bedingungen begrenzt von solchen mit geringer Stringenz (mit 2X SSC bei 50°C) und solchen mit hoher Stringenz (mit 0.2X SSC bei 50°C, bevorzugt bei 65°C) (20X SSC: 0,3 M Natriumcitrat, 3 M Natriumchlorid, pH 7.0).

30

Darüberhinaus kann die Temperatur während des Waschschrilles von moderaten Bedingungen bei Raumtemperatur, 22°C, bis zu stringenten Bedingungen bei 65°C angehoben werden.

Beide Parameter, Salzkonzentration und Temperatur, können gleichzeitig variiert werden, auch kann einer der beiden Parameter konstant gehalten und nur der andere variiert werden. Während der Hybridisierung können auch denaturierende Agenzien wie zum Beispiel Formamid oder SDS eingesetzt werden. In Gegenwart von 50 % Formamid wird die Hybridisierung bevorzugt bei 42°C ausgeführt.

40

Einige beispielhafte Bedingungen für Hybridisierung und Waschschrift sind infolge gegeben:

- (1) Hybridisierungsbedingungen mit zum Beispiel
- 5 (i) 4X SSC bei 65°C, oder
- (ii) 6X SSC bei 45°C, oder
- 10 (iii) 6X SSC bei 68°C, 100 mg/ml denaturierter Fischsperma-DNA, oder
- (iv) 6X SSC, 0.5 % SDS, 100 mg/ml denaturierte, fragmentierte Lachssperma-DNA bei 68°C, oder
- 15 (v) 6XSSC, 0.5 % SDS, 100 mg/ml denaturierte, fragmentierte Lachssperma-DNA, 50 % Formamid bei 42°C, oder
- (vi) 50 % Formamid, 4X SSC bei 42°C, oder
- 20 (vii) 50 % (vol/vol) Formamid, 0.1 % Rinderserumalbumin, 0.1 % Ficoll, 0.1 % Polyvinylpyrrolidon, 50 mM Natriumphosphatpuffer pH 6.5, 750 mM NaCl, 75 mM Natriumcitrat bei 42°C, oder
- (viii) 2X oder 4X SSC bei 50°C (moderate Bedingungen), oder
- 25 (ix) 30 bis 40 % Formamid, 2X oder 4X SSC bei 42°C (moderate Bedingungen).
- (2) Waschschriffe für jeweils 10 Minuten mit zum Beispiel
- 30 (i) 0.015 M NaCl/0.0015 M Natriumcitrat/0.1 % SDS bei 50°C, oder
- (ii) 0.1X SSC bei 65°C, oder
- (iii) 0.1X SSC, 0.5 % SDS bei 68°C, oder
- 35 (iv) 0.1X SSC, 0.5 % SDS, 50 % Formamid bei 42°C, oder
- (v) 0.2X SSC, 0.1 % SDS bei 42°C, oder



(vi) 2X SSC bei 65°C (moderate Bedingungen).

In einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren bringt man Nukleinsäuren ein, die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz  
5 SEQ ID NO: 4 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit  
10 der Sequenz SEQ ID NO: 4 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die wie vorstehend beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von  
15 der Sequenz SEQ ID NO: 4 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren bringt man Nukleinsäuren ein, die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 48 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder  
20 Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit  
25 der Sequenz SEQ ID NO: 48 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die, wie vorstehend beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von  
30 der Sequenz SEQ ID NO: 48 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren bringt man Nukleinsäuren ein die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 58 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder  
35 Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit  
40

der Sequenz SEQ ID NO: 58 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

5 Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die, wie vorstehend beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 58 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

10 In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren bringt man Nukleinsäuren ein die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 60 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70  
15 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 60 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

20 Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die, wie vorstehend beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 60 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

25 Unter dem Begriff "Substitution" ist in der Beschreibung für alle Proteine der Austausch einer oder mehrerer Aminosäuren durch eine oder mehrere Aminosäuren zu verstehen. Bevorzugt werden sog. konservative Austausche durchgeführt, bei denen die ersetzte Aminosäure eine ähnliche Eigenschaft hat wie die ursprüngliche Aminosäure,  
30 beispielsweise Austausch von Glu durch Asp, Gln durch Asn, Val durch Ile, Leu durch Ile, Ser durch Thr.

Deletion ist das Ersetzen einer Aminosäure durch eine direkte Bindung. Bevorzugte  
35 Positionen für Deletionen sind die Termini des Polypeptides und die Verknüpfungen zwischen den einzelnen Proteindomänen.

Insertionen sind Einfügungen von Aminosäuren in die Polypeptidkette, wobei formal eine direkte Bindung durch ein oder mehrere Aminosäuren ersetzt wird.

Unter Identität zwischen zwei Proteinen wird die Identität der Aminosäuren über die jeweils gesamte Proteinlänge verstanden, insbesondere die Identität die durch Vergleich mit Hilfe der Vector NTI Suite 7.1 Software der Firma Informax (USA) unter Anwendung der Clustal Methode (Higgins DG, Sharp PM. Fast and sensitive multiple sequence alignments on a microcomputer. Comput Appl. Biosci. 1989 Apr;5(2):151-1) unter Einstellung folgender Parameter berechnet wird:

Multiple alignment parameter:

Gap opening penalty 10  
10 Gap extension penalty 10  
Gap separation penalty range 8  
Gap separation penalty off  
% identity for alignment delay 40  
Residue specific gaps off  
15 Hydrophilic residue gap off  
Transition weighing 0

Pairwise alignment parameter:

FAST algorithm on  
K-tuplesize 1  
20 Gap penalty 3  
Window size 5  
Number of best diagonals 5

25 Unter einem Protein, das eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit einer bestimmten Sequenz aufweist, wird dementsprechend ein Protein verstanden, das bei einem Vergleich seiner Sequenz mit der bestimmten Sequenz insbesondere nach obigem Programmlogarithmus mit obigem Parametersatz eine Identität von mindestens 70 % aufweist.

30 Unter einem Protein, das beispielsweise eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 4 oder 48 oder 58 oder 60 aufweist, wird dementsprechend ein Protein verstanden, das bei einem Vergleich seiner Sequenz mit der Sequenz SEQ ID NO: 4 oder 48 oder 58 oder 60, insbesondere nach obigen Programmlogarithmus mit obigem Parametersatz eine Identität von mindestens  
35 70 % aufweist.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

5 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der organismus-spezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

10 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 3 in die Pflanze ein.

In einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 48 in die Pflanze ein.

15 In einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 58 in die Pflanze ein.

In einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 60 in die Pflanze ein.

20

Alle vorstehend erwähnten Ketolase-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebausteine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann  
25 beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, S. 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor  
30 Laboratory Press, beschrieben

Wie vorstehend erwähnt, weisen die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten nicht-humanen Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-Aktivität und eine veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität auf, wobei die veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz  
35 SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangsorganismen nicht-humane Organismen verwendet, die bereits als Wildtyp oder Ausgangsorganismus eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweisen. In dieser Ausführungsform bewirkt die genetische Veränderung eine Erhöhung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp oder Ausgangsorganismus, wobei die erhöhte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

10

Unter  $\beta$ -Cyclase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer  $\beta$ -Cyclase verstanden.

15

Unter einer  $\beta$ -Cyclase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, einen endständigen, linearen Rest von Lycopin in einen  $\beta$ -Ionon-Ring zu überführen.

Insbesondere wird unter einer  $\beta$ -Cyclase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist,  $\gamma$ -Carotin in  $\beta$ -Carotin umzuwandeln.

20

Dementsprechend wird unter  $\beta$ -Cyclase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein  $\beta$ -Cyclase umgesetzte Menge  $\gamma$ -Carotin bzw. gebildete Menge  $\beta$ -Carotin verstanden.

25

Bei einer erhöhten  $\beta$ -Cyclase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein  $\beta$ -Cyclase die umgesetzte Menge an Lycopin bzw.  $\gamma$ -Carotin oder die gebildete Menge an  $\gamma$ -Carotin aus Lycopin bzw. die gebildete Menge an  $\beta$ -Carotin aus  $\gamma$ -Carotin erhöht.

30

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität des Wildtyps.

35

Die Bestimmung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Die Aktivität der  $\beta$ -Cyclase wird nach Fraser und Sandmann (Biochem. Biophys. Res. Comm. 185(1) (1992) 9-15) *in vitro* bestimmt. Es werden zu einer bestimmten Menge

an Organismusextrakt Kaliumphosphat als Puffer (pH 7.6), Lycopin als Substrat, Stromaprotein von Paprika, NADP<sup>+</sup>, NADPH und ATP zugegeben.

- 5 Besonders bevorzugt erfolgt die Bestimmung der  $\beta$ -Cyclase –Aktivität unter folgenden Bedingungen nach Bouvier, d'Harlingue und Camara (Molecular Analysis of carotenoid cyclase inhibition; Arch. Biochem. Biophys. 346(1) (1997) 53-64):

10 Der in-vitro Assay wird in einem Volumen von 250  $\mu$ l Volumen durchgeführt. Der Ansatz enthält 50 mM Kaliumphosphat (pH 7.6), unterschiedliche Mengen an Organismusextrakt, 20 nM Lycopin, 250  $\mu$ g an chromoplastidärem Stromaprotein aus Paprika, 0.2 mM NADP<sup>+</sup>, 0.2 mM NADPH und 1 mM ATP. NADP/NADPH und ATP werden in 10 ml Ethanol mit 1 mg Tween 80 unmittelbar vor der Zugabe zum Inkubationsmedium gelöst. Nach einer Reaktionszeit von 60 Minuten bei 30°C wird die Reaktion durch Zugabe von Chloroform/Methanol (2:1) beendet. Die in Chloroform extrahierten Reaktionsprodukte werden mittels HPLC analysiert.

Ein alternativer Assay mit radioaktivem Substrat ist beschrieben in Fraser und Sandmann (Biochem. Biophys. Res. Comm. 185(1) (1992) 9-15).

- 20 Die Erhöhung der  $\beta$ -Cyclase–Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Expressions- und Proteinebene oder durch Erhöhung der Genexpression gegenüber dem Wildtyp von Nukleinsäuren, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

- 30 Die Erhöhung der Genexpression der Nukleinsäuren, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, gegenüber dem Wildtyp kann ebenfalls durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Induzierung des  $\beta$ -Cyclase-Gens durch Aktivatoren oder durch Einbringen von einer oder mehrerer  $\beta$ -Cyclase-Genkopien, also durch Einbringen mindestens einer Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, in den Organismus.

- 40 Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, wird erfindungsgemäß auch die Manipulation der Expression der Organismus eigenen endogenen  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleite-

te Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, verstanden.

5 Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Promotor DNA-Sequenz für  $\beta$ -Cyclasen kodierende Gene erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine erhöhte Expressionsrate des Gens zur Folge hat, kann beispielsweise durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.

10 Es ist, wie vorstehend beschrieben, möglich, die Expression der endogenen  $\beta$ -Cyclase durch die Applikation exogener Stimuli zu verändern. Dies kann durch besondere physiologische Bedingungen, also durch die Applikation von Fremdstoffen erfolgen.

15 Des weiteren kann eine veränderte bzw. erhöhte Expression eines endogenen  $\beta$ -Cyclase-Gens dadurch erzielt werden, dass ein im nicht transformierten Organismus nicht vorkommendes Regulator-Protein mit dem Promotor dieses Gens in Wechselwirkung tritt.

20 Solch ein Regulator kann ein chimäres Protein darstellen, welches aus einer DNA-Bindedomäne und einer Transkriptionsaktivator-Domäne besteht, wie beispielsweise in WO 96/06166 beschrieben.

25 In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, durch Einbringen in den Organismus von mindestens einer Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

30 In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres  $\beta$ -Cyclase-Gen vor. In dieser Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, auf.

35 In einer anderen, bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangsorganismen nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp keine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweisen. In dieser, weniger bevorzugten Ausführungsform verursacht die genetische Veränderung die  $\beta$ -Cyclase -Aktivität in den Organismen. Der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus weist somit in dieser,

40

Ausführungsform im Vergleich zum genetisch nicht veränderten Wildtyp eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität auf und ist somit vorzugsweise in der Lage, transgen eine  $\beta$ -Cyclase zu exprimieren.

- 5 In dieser bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine  $\beta$ -Cyclase analog zu der vorstehend beschriebenen Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine  $\beta$ -Cyclase vorzugsweise durch Einbringen von Nukleinsäuren, die  $\beta$ -Cyclase kodieren in den Ausgangsorganismus.

10

Dazu kann in beiden Ausführungsformen prinzipiell jedes  $\beta$ -Cyclase-Gen, also jede Nukleinsäure, die eine  $\beta$ -Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, verwendet werden.

15

- Bei genomischen  $\beta$ -Cyclase-Nukleinsäure-Sequenzen aus eukaryotischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall, dass der Wirtsorganismus nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden kann, die entsprechende  $\beta$ -Cyclase zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs, zu verwenden.

20

Eine besonders bevorzugte  $\beta$ -Cyclase ist die chromoplastenspezifische  $\beta$ -Cyclase aus Tomate (AAG21133) (Nukleinsäure: SEQ ID No. 1; Protein: SEQ ID No. 2).

25

- Die erfindungsgemäße verwendbaren  $\beta$ -Cyclase-Gene sind Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 2, und die die enzymatische Eigenschaft einer  $\beta$ -Cyclase aufweisen.

30

- Weitere Beispiele für  $\beta$ -Cyclasen und  $\beta$ -Cyclase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SEQ ID NO: 2 leicht auffinden.

35



Weitere Beispiele für  $\beta$ -Cyclasen und  $\beta$ -Cyclase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 1 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

5

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der  $\beta$ -Cyclase der Sequenz SEQ ID NO: 2.

- 10 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der organismus-spezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

15

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 1 in den Organismus ein.

20

Alle vorstehend erwähnten  $\beta$ -Cyclase-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebausteine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, beschrieben.

25

30

In einer bevorzugten Ausführungsform werden nicht-humane Organismen kultiviert, die gegenüber dem Wildtyp zusätzlich zur veränderten Ketolase-Aktivität und veränderten  $\beta$ -Cyclase-Aktivität eine veränderte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.

35

Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Hydroxylase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp keine Hydroxylase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp verursachte Hydroxylase-Aktivität“ verstanden.

40

Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Hydroxylase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp eine Hydroxylase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp erhöhte Hydroxylase-Aktivität“ verstanden.

5

Dementsprechend werden in einer bevorzugten Ausführungsform nicht-humane Organismen kultiviert, die gegenüber dem Wildtyp zusätzlich zur veränderten Ketolase-Aktivität und veränderten  $\beta$ -Cyclase-Aktivität eine verursachte oder erhöhte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.

10

Unter Hydroxylase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Hydroxylase verstanden.

Unter einer Hydroxylase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, am, gegebenenfalls substituierten,  $\beta$ -Ionon-Ring von Carotinoiden eine Hydroxy-Gruppe einzuführen.

15

Insbesondere wird unter einer Hydroxylase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist,  $\beta$ -Carotin in Zeaxanthin oder Canthaxanthin in Astaxanthin umzuwandeln.

20

Dementsprechend wird unter Hydroxylase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Hydroxylase umgesetzte Menge  $\beta$ -Carotin oder Canthaxanthin bzw. gebildete Menge Zeaxanthin oder Astaxanthin verstanden.

Bei einer erhöhten Hydroxylase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Hydroxylase die umgesetzte Menge  $\beta$ -Carotin oder Canthaxanthin bzw. die gebildete Menge Zeaxanthin oder Astaxanthin erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Hydroxylase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Hydroxylase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Hydroxylase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismus und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Die Aktivität der Hydroxylase wird nach Bouvier et al. (Biochim. Biophys. Acta 1391 (1998), 320-328) *in vitro* bestimmt. Es wird zu einer bestimmten Menge an Organis-

40

musextrakt Ferredoxin, Ferredoxin-NADP Oxidoreductase, Katalase, NADPH sowie beta-Carotin mit Mono- und Digalaktosylglyzeriden zugegeben.

- 5 Besonders bevorzugt erfolgt die Bestimmung der Hydroxylase-Aktivität unter folgenden Bedingungen nach Bouvier, Keller, d'Harlingue und Camara (Xanthophyll biosynthesis: molecular and functional characterization of carotenoid hydroxylases from pepper fruits (*Capsicum annuum* L.; Biochim. Biophys. Acta 1391 (1998), 320-328):

- 10 Der in-vitro Assay wird in einem Volumen von 0.250 ml Volumen durchgeführt. Der Ansatz enthält 50 mM Kaliumphosphat (pH 7.6), 0.025 mg Ferredoxin von Spinat, 0.5 Einheiten Ferredoxin-NADP+ Oxidoreduktase von Spinat, 0.25 mM NADPH, 0.010 mg beta-Carotin (in 0.1 mg Tween 80 emulgiert), 0.05 mM einer Mischung von Mono- und Digalaktosylglyzeriden (1:1), 1 Einheit Katalase, 0.2 mg Rinderserumalbumin und Organismusextrakt in unterschiedlichem Volumen. Die Reaktionsmischung wird 2  
15 Stunden bei 30°C inkubiert. Die Reaktionsprodukte werden mit organischem Lösungsmittel wie Aceton oder Chloroform/Methanol (2:1) extrahiert und mittels HPLC bestimmt.

- 20 Die Erhöhung oder Verursachung der Hydroxylase-Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Expressions- und Proteinebene oder durch Erhöhung oder Verursachung der Genexpression von Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase gegenüber dem Wildtyp.

- 25 Die Erhöhung oder Verursachung der Genexpression der Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase gegenüber dem Wildtyp kann ebenfalls durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Induzierung des Hydroxylase-Gens, durch Aktivatoren oder durch Einbringen von einer oder mehrerer Hydroxylase-Genkopien, also durch Einbringen mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase in den Organismus.  
30

- Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase wird erfindungsgemäß auch die Manipulation der Expression der Organismus eigenen, endogenen Hydroxylase verstanden.  
35

- Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Promotor DNA-Sequenz für Hydroxylasen kodierende Gene erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine erhöhte Expressionsrate des Gens zur Folge hat, kann beispielsweise durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.  
40

Es ist, wie vorstehend beschrieben, möglich, die Expression der endogenen Hydroxylase durch die Applikation exogener Stimuli zu verändern. Dies kann durch besondere physiologische Bedingungen, also durch die Applikation von Fremdstoffen erfolgen.

5

Des Weiteren kann eine verursachte oder erhöhte Expression eines endogenen Hydroxylase-Gens dadurch erzielt werden, dass ein in dem nicht transformierten Organismus nicht vorkommendes Regulator-Protein mit dem Promotor dieses Gens in Wechselwirkung tritt.

10

Solch ein Regulator kann ein chimäres Protein darstellen, welches aus einer DNA-Bindedomäne und einer Transkriptionsaktivator-Domäne besteht, wie beispielsweise in WO 96/06166 beschrieben.

15

In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung oder Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase in den Organismus.

20

Dazu kann prinzipiell jedes Hydroxylase-Gen, also jede Nukleinsäure, die eine Hydroxylase kodiert, verwendet werden.

25

Bei genomischen Hydroxylase-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall das die Wirtspflanze nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden kann, die entsprechende Hydroxylase zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs zu verwenden.

Beispiele für ein Hydroxylase-Gene sind:

30

eine Nukleinsäure, kodierend eine Hydroxylase aus *Haematococcus pluvialis*, Accession AX038729, WO 0061764); (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 77, Protein: SEQ ID NO: 78),

sowie Hydroxylasen der folgenden Accession Nummern:

35

|emb|CAB55626.1, CAA70427.1, CAA70888.1, CAB55625.1, AF499108\_1, AF315289\_1, AF296158\_1, AAC49443.1, NP\_194300.1, NP\_200070.1, AAG10430.1, CAC06712.1, AAM88619.1, CAC95130.1, AAL80006.1, AF162276\_1, AAO53295.1, AAN85601.1, CRTZ\_ERWHE, CRTZ\_PANAN, BAB79605.1, CRTZ\_ALCSP, 40 CRTZ\_AGRAU, CAB56060.1, ZP\_00094836.1, AAC44852.1, BAC77670.1,

NP\_745389.1, NP\_344225.1, NP\_849490.1, ZP\_00087019.1, NP\_503072.1,  
NP\_852012.1, NP\_115929.1, ZP\_00013255.1

5 Eine besonders bevorzugte Hydroxylase ist weiterhin die Hydroxylase aus Tomate  
(Accession Y14810) (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 5; Protein: SEQ ID NO. 6).

10 In den erfindungsgemäßen bevorzugten transgenen Organismen liegt also in dieser  
bevorzugten Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres  
Hydroxylase-Gen vor.

15 In dieser bevorzugten Ausführungsform weist der genetisch veränderte Organismus  
beispielsweise mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Hydroxylase  
oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Hydroxylase auf.

20 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform  
als Hydroxylase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäu-  
resequenz SEQ ID NO: 6 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion  
oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens  
70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85%, noch bevorzugter  
mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der  
Sequenz SEQ ID NO: 6, und die die enzymatische Eigenschaft einer Hydroxylase auf-  
weisen.

25 Weitere Beispiele für Hydroxylasen und Hydroxylase-Gene lassen sich beispielsweise  
aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorste-  
hend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der  
entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der  
SeQ ID NO: 6 leicht auffinden.

30 Weitere Beispiele für Hydroxylasen und Hydroxylase-Gene lassen sich weiterhin bei-  
spielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 5 aus verschiedenen Organis-  
men deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch  
Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

35 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der  
Hydroxylase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren,  
enthaltend die Aminosäuresequenz der Hydroxylase der Sequenz SEQ ID NO: 6.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

5 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der organismus-spezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

10 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 5 in den Organismus ein.

Alle vorstehend erwähnten Hydroxylase-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebausteine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann  
15 beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in  
20 Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, beschrieben.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist und eine verursachte Ketolase-Aktivität aufweisen.  
25  
30

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen keine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine verursachte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist und eine verursachte Ketolase-  
35

Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität und eine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist und eine erhöhte Ketolase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, keine Ketolase-Aktivität und keine Hydroxylase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine verursachte Ketolase-Aktivität und eine verursachte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, eine Hydroxylase-Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine erhöhte Hydroxylase-Aktivität und eine verursachte Ketolase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch veränderte, nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen keine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, keine Hydroxylase-Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine verursachte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine verursachte Hydroxylase-Aktivität und eine verursachte Ketolase-Aktivität

te Hydroxylase-Aktivität und eine verursachte Ketolase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, eine Hydroxylase-Aktivität und eine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine erhöhte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität eine erhöhte Hydroxylase-Aktivität und eine erhöhte Ketolase-Aktivität aufweisen.

In einer weiter bevorzugten Ausführungsform werden genetisch veränderte, nicht-humane Organismen kultiviert, die zusätzlich gegenüber dem Wildtyp eine erhöhte Aktivität mindestens einer der Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und MinD-Aktivität aufweisen.

Unter HMG-CoA-Reduktase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer HMG-CoA-Reduktase (3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A-Reduktase) verstanden.

Unter einer HMG-CoA-Reduktase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A in Mevalonat umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter HMG-CoA-Reduktase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein HMG-CoA-Reduktase umgesetzte Menge 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A bzw. gebildete Menge Mevalonat verstanden.

Bei einer erhöhten HMG-CoA-Reduktase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein HMG-CoA-Reduktase die umgesetzte Menge 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A bzw. die gebildete Menge Mevalonat erhöht.



Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugt mindestens 300 %, noch bevorzugt mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismus und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mösern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0.1% (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocapronsäure, 10% Glycerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0.5 mM PMSF zugegeben.

Die Aktivität der HMG-CoA-Reduktase kann nach veröffentlichten Beschreibungen gemessen werden (z.B. Schaller, Grausem, Benveniste, Chye, Tan, Song und Chua, Plant Physiol. 109 (1995), 761-770; Chappell, Wolf, Proulx, Cuellar und Saunders, Plant Physiol. 109 (1995) 1337-1343). Organismengewebe kann in kaltem Puffer (100 mM Kaliumphosphat (pH 7.0), 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM DTT) homogenisiert und extrahiert werden. Das Homogenisat wird 15 Minuten lang bei 10.000g bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wird danach bei 100.000g für 45-60 Minuten nochmals zentrifugiert. Die Aktivität der HMG-CoA-Reduktase wird im Überstand und im Pellet der mikrosomalen Fraktion (nach dem Resuspendieren in 100 mM Kaliumphosphat (pH 7.0) und 50 mM DTT) bestimmt. Aliquots der Lösung und der Suspension (der Proteingehalt der Suspension entspricht etwa 1-10  $\mu$ g) werden in 100 mM Kaliumphosphat-Puffer (pH 7,0 mit 3 mM NADPH und 20  $\mu$ M (<sup>14</sup>C)HMG-CoA (58  $\mu$ Ci/ $\mu$ M) idealerweise in einem Volumen von 26  $\mu$ l für 15-60 Minuten bei 30°C inkubiert. Die Reaktion wird terminiert durch die Zugabe von 5  $\mu$ l Mevalonatlacton (1 mg/ml) und 6 N HCl. Nach Zugabe wird die Mischung bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Das in der Reaktion gebildete (<sup>14</sup>C)-Mevalonat wird quantifiziert, indem 125  $\mu$ l einer gesättigten Kaliumphosphat-Lösung (pH 6.0) und 300  $\mu$ l Ethylacetat zugegeben werden. Die Mischung wird gut vermischt und zentrifugiert. Mittels Szintillationsmessung kann die Radioaktivität bestimmt werden.

Unter (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, auch lytB oder lspH bezeichnet, wird die Enzymaktivität einer (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase verstanden.

- 5    Unter einer (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat in Isopentenylidiphosphat und Dimethylallyldiphosphate umzuwandeln.

- 10   Dementsprechend wird unter (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase umgesetzte Menge (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Isopentenylidiphosphat und/oder Dimethylallyldiphosphat verstanden.

- 15   Bei einer erhöhten (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase –Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase die umgesetzte Menge (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Isopentenylidiphosphat und/oder Dimethylallyldiphosphat erhöht.

- 20   Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase –Aktivität des Wildtyps.

- 25   Die Bestimmung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 35   Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mösern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, sodaß eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0.1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF

zugegeben.

Die Bestimmung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität kann über einen immunologischen Nachweis erbracht werden. Die Herstellung spezifischer Antikörper ist durch Rohdich und Kollegen (Rohdich, Hecht, Gärtner, Adam, Krieger, Amslinger, Arigoni, Bacher und Eisenreich: Studies on the nonmevalonate terpene biosynthetic pathway: metabolic role of IspH (LytB) protein, Natl. Acad. Natl. Sci. USA 99 (2002), 1158-1163) beschrieben worden. Zur Bestimmung der katalytischen Aktivität beschreiben Altincicek und Kollegen (Altincicek, Duin, Reichenberg, Hedderich, Kollas, Hintz, Wagner, Wiesner, Beck und Jomaa: LytB protein catalyzes the terminal step of the 2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis; FEBS Letters 532 (2002,) 437-440) ein in vitro-System, welches die Reduktion von (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl diphosphat in die Isopentenyl-diphosphat und Dimethylallyldiphosphat verfolgt.

Unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase verstanden.

Unter einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Hydroxyethyl-ThPP und Glycerinaldehyd-3-Phosphat in 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase –Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase umgesetzte Menge Hydroxyethyl-ThPP und/oder Glycerinaldehyd-3-Phosphat bzw. gebildete Menge 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat verstanden.

Bei einer erhöhten 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase –Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase die umgesetzte Menge Hydroxyethyl-ThPP und/oder Glycerinaldehyd-3-Phosphat bzw. die gebildete Menge -Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase –Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 5    Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der
- 10   Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocapronsäure, 10 % Glycerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.
- 15   Die Reaktionslösung (50-200  $\mu$ l) für die Bestimmung der D-1-Deoxyxylulose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität (DXS) besteht aus 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 3 mM MnCl<sub>2</sub>, 3 mM ATP, 1 mM Thiamindiphosphat, 0.1% Tween-60, 1 mM Kaliumfluorid, 30  $\mu$ M (2-<sup>14</sup>C)-Pyruvat (0.5  $\mu$ Ci), 0.6 mM DL-Glycerinaldehyd-3-phosphat. Der Organismenextrakt wird 1 bis 2 Stunden in der Reaktionslösung bei 37°C inkubiert.
- 20   Danach wird die Reaktion durch Erhitzen auf 80°C für 3 Minuten gestoppt. Nach Zentrifugation bei 13.000 Umdrehungen/Minute für 5 Minuten wird der Überstand evaporiert, der Rest in 50  $\mu$ l Methanol resuspendiert, auf eine TLC-Platte für Dünnschichtchromatographie (Silica-Gel 60, Merck, Darmstadt) aufgetragen und in N-Propylalkohol/Ethylacetat/Wasser (6:1:3; v/v/v) aufgetrennt. Dabei trennt sich radioaktiv
- 25   markiertes D-1-deoxyxylulose-5-phosphat (oder D-1-deoxyxylulose) von (2-<sup>14</sup>C)-Pyruvat. Die Quantifizierung erfolgt mittels Scintillationszähler. Die Methode wurde beschrieben in Harker und Bramley (FEBS Letters 448 (1999) 115-119). Alternativ wurde ein fluorometrischer Assay zur Bestimmung der DXS-Synthaseaktivität von Querol und Kollegen beschrieben (Analytical Biochemistry 296 (2001) 101-105).
- 30   Unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, auch 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase genannt, verstanden.
- 35   Unter einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat in 2-C-methyl-D-erythritol 4-Phosphat umzuwandeln.
- 40   Dementsprechend wird unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase – Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-

Reduktoisomerase umgesetzte Menge 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat bzw. gebildete Menge 2-C-methyl-D-erythritol 4-Phosphat verstanden.

- Bei einer erhöhten 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase die umgesetzte Menge 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat bzw. die gebildete Menge 2-C-methyl-D-erythritol 4-Phosphat erhöht.
- 10 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase –Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität des Wildtyps.
- 15 Die Bestimmung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase –Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:
- 20 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, sodaß eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der
- 25 Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.
- 30 Die Aktivität der D-1-Deoxyxylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase (DXR) wird gemessen in einem Puffer aus 100 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1 mM MnCl<sub>2</sub>, 0,3 mM NADPH und 0,3 mM 1-Deoxy-D-Xylulose-4-Phosphat, welches z.B. enzymatisch synthetisiert werden kann (Kuzuyama, Takahashi, Watanabe und Seto: Tetrahedon letters 39 (1998) 4509-4512). Die Reaktion wird durch Zugabe des Organismenextraktes gestartet.
- 35 Das Reaktionsvolumen kann typischerweise 0,2 bis 0,5 mL betragen; die Inkubation erfolgt bei 37°C über 30-60 Minuten. Während dieser Zeit wird die Oxidation von NADPH photometrisch bei 340 nm verfolgt.

Unter Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase -Aktivität wird die Enzymaktivität einer Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase verstanden.

5 Unter einer Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Isopentenyl-Diphosphat in Dimethylallylphosphat umzuwandeln.

10 Dementsprechend wird unter Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase -Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Dimethylallylphosphat verstanden.

15 Bei einer erhöhten Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase die umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Dimethylallylphosphat erhöht.

20 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase -Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase Aktivität des Wildtyps.

25 Die Bestimmung der Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

30 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörtsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure, 35 10 % Glycerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

40 Aktivitätsbestimmungen der Isopentenyl-Diphosphat-Isomerase (IPP-Isomerase) können nach der von Fraser und Kollegen vorgestellten Methode (Fraser, Römer, Shipton, Mills, Kiano, Misawa, Drake, Schuch und Bramley: Evaluation of transgenic tomato

plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99 (2002), 1092-1097, basierend auf Fraser, Pinto, Holloway und Bramley, Plant Journal 24 (2000), 551-558) durchgeführt werden. Für Enzymmessungen werden Inkubationen mit 0,5  $\mu$ Ci (1- $^{14}$ C)IPP (Isopentenylpyrophosphat) (56  
5 mCi/mmol, Amersham plc) als Substrat in 0,4 M Tris-HCl (pH 8,0) mit 1 mM DTT, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 6 mM Mn Cl<sub>2</sub>, 3 mM ATP, 0,1 % Tween 60, 1 mM Kaliumfluorid in einem Volumen von etwa 150-500  $\mu$ l durchgeführt. Extrakte werden mit Puffer gemischt (z.B. im Verhältnis 1:1) und für wenigstens 5 Stunden bei 28°C inkubiert. Danach wird etwa  
10 200  $\mu$ l Methanol zugegeben und durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure (Endkonzentration 25 %) eine Säurehydrolyse für etwa 1 Stunde bei 37°C durchgeführt. Anschließend erfolgt eine zweimalige Extraktion (jeweils 500  $\mu$ l) mit Petrolether (versetzt mit 10% Diethylether). Die Radioaktivität in einem Aliquot der Hyperphase wird mittels Szintillationszähler bestimmt. Die spezifische Enzymaktivität kann bei kurzer Inkubation von 5 Minuten bestimmt werden, da kurze Reaktionszeiten die Bildung von Reaktions-  
15 nebenprodukten unterdrückt (siehe Lützow und Beyer: The isopentenyl-diphosphate  $\Delta$ -isomerase and its relation to the phytoene synthase complex in daffodil chromoplasts; Biochim. Biophys. Acta 959 (1988), 118-126)

Unter Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität wird die Enzymaktivität einer Geranyl-  
20 Diphosphat-Synthase verstanden.

Unter einer Geranyl-Diphosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Isopentenyl-Diphosphat und Dimethylallylphosphat in Geranyl-Diphosphat umzuwandeln.  
25

Dementsprechend wird unter Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Diphosphat-Synthase umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat und/oder Dimethylallylphosphat bzw. gebildete Menge Geranyl-Diphosphat verstanden.  
30

Bei einer erhöhten Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Diphosphat-Synthase die umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat und/oder Dimethylallylphosphat bzw. die gebildete Menge Geranyl-Diphosphat erhöht.  
35

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Geranyl-

### Diphosphat-Synthase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocapronsäure, 10 % Glycerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Die Aktivität der Geranyl-Diphosphat-Synthase (GPP-Synthase) kann in 50 mM Tris-HCl (pH 7.6), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM MnCl<sub>2</sub>, 2 mM DTT, 1 mM ATP, 0.2 % Tween-20, 5  $\mu$ M (<sup>14</sup>C)IPP und 50  $\mu$ M DMAPP (Dimethylallylpyrophosphat) nach Zugabe von Organismenextrakt bestimmt werden (nach Bouvier, Suire, d'Harlingue, Backhaus und Camara: Molecular cloning of geranyl diphosphate synthase and compartmentation of monoterpene synthesis in plant cells, Plant Journal 24 (2000) 241-252). Nach der Inkubation von z.B. 2 Stunden bei 37 °C werden die Reaktionsprodukte dephosphoryliert (nach Koyama, Fuji und Ogura: Enzymatic hydrolysis of polyprenyl pyrophosphates, Methods Enzymol. 110 (1985), 153-155) und mittels Dünnschichtchromatographie und Messung der inkorporierten Radioaktivität analysiert (Dogbo, Bardat, Quennemet und Camara: Metabolism of plastid terpenoids: In vitro inhibition of phytoene synthesis by phenethyl pyrophosphate derivatives, FEBS Letters 219 (1987) 211-215).

Unter Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Farnesyl-Diphosphat-Synthase verstanden.

Unter einer Farnesyl-Diphosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, sequentiell 2 Moleküle Isopentenyl-Diphosphat mit Dimethylallyl-Diphosphat und dem resultierenden Geranyl-Diphosphat in Farnesyl-Diphosphat umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Farnesyl-Diphosphat-Synthase umgesetzte Menge Dimethylallyl-Diphosphate und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge



Farnesyl-Diphosphat verstanden.

Bei einer erhöhten Farnesyl-Diphosphat-Synthase –Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Farnesyl-Diphosphat-Synthase die umgesetzte Menge Dimethylallyl-Diphosphate und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Farnesyl-Diphosphat erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase –Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugt mindestens 300 %, noch bevorzugt mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Farnesyl-Diphosphat-Synthase–Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase–Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM  $MgCl_2$ , 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocapronsäure, 10 % Glycerin, 5 mM  $KHCO_3$ . Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Die Aktivität der Farnesylpyrophosphat-Synthase (FPP-Synthase) kann nach einer Vorschrift von Joly und Edwards (Journal of Biological Chemistry 268 (1993), 26983-26989) bestimmt werden. Danach wird die Enzymaktivität in einem Puffer aus 10 mM HEPES (pH 7,2), 1 mM  $MgCl_2$ , 1 mM Dithiothreitol, 20  $\mu$ M Geranylpyrophosphat und 40  $\mu$ M ( $1-^{14}C$ ) Isopentenylpyrophosphat (4 Ci/mmol) gemessen. Die Reaktionsmischung wird bei 37°C inkubiert; die Reaktion wird durch Zugabe von 2,5 N HCl (in 70 % Ethanol mit 19  $\mu$ g/ml Farnesol) gestoppt. Die Reaktionsprodukte werden somit durch Säurehydrolyse bei 37°C innerhalb von 30 Minuten hydrolysiert. Durch Zugabe von 10% NaOH wird die Mischung neutralisiert und mit Hexan ausgeschüttelt. Ein Aliquot der Hexanphase kann zur Bestimmung der eingebauten Radioaktivität mittels Szintillationszähler gemessen werden.

- Alternativ können nach Inkubation von Organismenextrakt und radioaktiv markierten IPP die Reaktionsprodukte mittels Dünnschichtchromatographie (Silica-Gel SE60, Merck) in Benzol/Methanol (9:1) getrennt werden. Radioaktiv markierte Produkte werden eluiert und die Radioaktivität bestimmt (nach Gaffe, Bru, Causse, Vidal, Stamitti-Bert, Carde und Gallusci: LEFPS1, a tomato farnesyl pyrophosphate gene highly expressed during early fruit development; Plant Physiology 123 (2000) 1351-1362).

Unter Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität wird die Enzymaktivität einer Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase verstanden.

Unter einer Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Farnesyl-Diphosphat und Isopentenyl-Diphosphat in Geranyl-Geranyl-Diphosphat umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase umgesetzte Menge Farnesyl-Diphosphat und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat verstanden.

Bei einer erhöhten Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase die umgesetzte Menge Farnesyl-Diphosphat und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des lineären Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der

Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure, 10 % Glycerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

5

Aktivitätsmessungen der Geranylgeranylpyrophosphat-Synthase (GGPP-Synthase) können nach der von Dogbo und Camara beschriebenen Methode (in *Biochim. Biophys. Acta* 920 (1987), 140-148: Purification of isopentenyl pyrophosphate isomerase and geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Capsicum* chromoplasts by affinity chromatography) bestimmt werden. Dazu wird einem Puffer (50 mM Tris-HCl (pH 7,6), 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM MnCl<sub>2</sub>, 2 mM Dithiothreitol, (1-<sup>14</sup>C)IPP (0,1  $\mu$ Ci, 10  $\alpha$ M), 15  $\alpha$ M DMAPP, GPP oder FPP) mit einem Gesamtvolumen von etwa 200  $\mu$ l Organismenextrakt zugesetzt. Die Inkubation kann für 1-2 Stunden (oder länger) bei 30°C erfolgen. Die Reaktion wird durch Zugabe von 0,5 ml Ethanol und 0,1 ml 6N HCl. Nach 10minütiger Inkubation bei 37°C wird die Reaktionsmischung mit 6N NaOH neutralisiert, mit 1 ml Wasser vermischt und mit 4 ml Diethylether ausgeschüttelt. In einem Aliquot (z.B. 0,2 mL) der Etherphase wird mittels Szintillationszählung die Menge an Radioaktivität bestimmt. Alternativ können nach Säurehydrolyse die radioaktiv markierten Prenylalkohole in Ether ausgeschüttelt werden und mit HPLC (25 cm-Säule Spherisorb ODS-1, 5 $\mu$ m; Elution mit Methanol/Wasser (90:10; v/v) bei einer Flussrate von 1 ml/min) getrennt und mittels Radioaktivitätsmonitor quantifiziert werden (nach Wiedemann, Misawa und Sandmann: Purification and enzymatic characterization of the geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Erwinia uredovora* after expression in *Escherichia coli*; *Archives Biochemistry and Biophysics* 306 (1993), 152-157).

25

Unter Phytoen-Synthase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Phytoen-Synthase verstanden.

Insbesondere wird unter einer Phytoen-Synthase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Geranyl-Geranyl-Diphosphat in Phytoen umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Phytoen-Synthase -Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Synthase umgesetzte Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Phytoen verstanden.

35

Bei einer erhöhten Phytoen-Synthase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Synthase die umgesetzte Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Phytoen erhöht.

40

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Phytoen-Synthase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Phytoen-Synthase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Phytoen-Synthase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure, 10 % Glycerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Aktivitätsbestimmungen der Phytoen-Synthase (PSY) können nach der von Fraser und Kollegen vorgestellten Methode (Fraser, Romer, Shipton, Mills, Kiano, Misawa, Drake, Schuch und Bramley: Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99 (2002), 1092-1097, basierend auf Fraser, Pinto, Holloway und Bramley, Plant Journal 24 (2000) 551-558) durchgeführt werden. Für Enzymmessungen werden Inkubationen mit (<sup>3</sup>H)Geranylgeranyl-pyrophosphat (15 mCi/mM, American Radiolabeled Chemicals, St. Louis) als Substrat in 0,4 M Tris-HCl (pH 8,0) mit 1 mM DTT, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 6 mM Mn Cl<sub>2</sub>, 3 mM ATP, 0,1 % Tween 60, 1 mM Kaliumfluorid durchgeführt. Organismenextrakte werden mit Puffer gemischt, z B. 295  $\mu$ l Puffer mit Extrakt in einem Gesamtvolumen von 500  $\mu$ l. Inkubiert wird für wenigstens 5 Stunden bei 28°C. Anschließend wird Phytoene durch zweimaliges Ausschütteln (jeweils 500  $\mu$ l) mit Chloroform extrahiert. Das während der Reaktion gebildete radioaktiv markierte Phytoene wird mittels Dünnschichtchromatographie auf Silicaplatten in Methanol/Wasser (95:5; v/v) getrennt. Phytoene kann in einer Jod-angereicherten Atmosphäre (durch Erhitzen weniger Iodkristalle) auf den Silicaplatten identifiziert werden. Ein Phytoene-Standard dient als Referenz. Die Menge an radioaktiv markiertem Produkt wird mittels Messung im Szintillationszähler bestimmt. Alternativ kann Phytoene auch mittels HPLC, die mit einem Radioaktivitätsdetektor versehen ist, quantifiziert werden (Fraser, Albrecht und Sandmann: Development of high performance liquid chromatographic systems for the separation of

radiolabeled carotenes and precursors formed in specific enzymatic reactions; J. Chromatogr. 645 (1993) 265-272).

5 Unter Phytoen-Desaturase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Phytoen-Desaturase verstanden.

Unter einer Phytoen-Desaturase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Phytoen in Phytofluen und/oder Phytofluen in  $\zeta$ -Carotin (Zetacarotin) umzuwandeln.

10 Dementsprechend wird unter Phytoen-Desaturase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Desaturase umgesetzte Menge Phytoen bzw. Phytofluen bzw. gebildete Menge Phytofluen bzw.  $\zeta$ -Carotin verstanden.

15 Bei einer erhöhten Phytoen-Desaturase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Desaturase die umgesetzte Menge Phytoen bzw. Phytofluen bzw. die gebildete Menge Phytofluen bzw.  $\zeta$ -Carotin erhöht.

20 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Phytoen-Desaturase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Phytoen-Desaturase-Aktivität des Wildtyps.

25 Die Bestimmung der Phytoen-Desaturase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

30 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise  
35 kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM  $MgCl_2$ , 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure, 10 % Glycerin, 5 mM  $KHCO_3$ . Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Die Aktivität der Phytoen-Desaturase (PDS) kann durch die Inkorporation von radioaktiv markiertem ( $^{14}\text{C}$ )-Phytoen in ungesättigte Carotine gemessen werden (nach Römer, Fraser, Kiano, Shipton, Misawa, Schuch und Bramley: Elevation of the provitamin A content of transgenic tomato plants; *Nature Biotechnology* 18 (2000) 666-669). Radioaktiv markiertes Phytoene kann synthetisiert werden nach Fraser (Fraser, De la Rivas, Mackenzie, Bramley: *Phycomyces blakesleanus* CarB mutants: their use in assays of phytoene desaturase; *Phytochemistry* 30 (1991), 3971-3976). Membranen von Plastiden des Zielgewebes können mit 100 mM MES-Puffer (pH 6,0) mit 10 mM  $\text{MgCl}_2$  und 1 mM Dithiothreitol in einem Gesamtvolumen von 1 mL inkubiert werden. In Aceton gelöstes ( $^{14}\text{C}$ )-Phytoen (etwa 100.000 Zerfälle/Minute für jeweils eine Inkubation) wird zugegeben, wobei die Acetonkonzentration 5 % (v/v) nicht übersteigen sollte. Diese Mischung wird bei 28°C für etwa 6 bis 7 Stunden im Dunklen unter Schütteln inkubiert. Danach werden Pigmente dreimal mit etwa 5 mL Petrolether (mit 10 % Diethylether versetzt) extrahiert und mittels HPLC getrennt und quantifiziert.

Alternativ kann die Aktivität der Phytoen-Desaturase nach Fraser et al. (Fraser, Misawa, Linden, Yamano, Kobayashi und Sandmann: Expression in *Escherichia coli*, purification, and reactivation of the recombinant *Erwinia uredovora* phytoene desaturase, *Journal of Biological Chemistry* 267 (1992), 19891-19895) gemessen werden.

Unter Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Zeta-Carotin-Desaturase verstanden.

Unter einer Zeta-Carotin-Desaturase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist,  $\zeta$ -Carotin in Neurosporin und/oder Neurosporin in Lycopin umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Zeta-Carotin-Desaturase umgesetzte Menge  $\zeta$ -Carotin oder Neurosporin bzw. gebildete Menge Neurosporin oder Lycopin verstanden.

Bei einer erhöhten Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Zeta-Carotin-Desaturase die umgesetzte Menge  $\zeta$ -Carotin oder Neurosporin bzw. die gebildete Menge Neurosporin oder Lycopin erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugt mindestens 300 %, noch bevorzugt mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Zeta-Carotin-Desaturase –

### Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM  $\epsilon$ -Aminocapronsäure, 10 % Glycerin, 5 mM KHCO<sub>3</sub>. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Analysen zur Bestimmung der  $\xi$ -Carotin-Desaturase (ZDS-Desaturase) können in 0,2 M Kaliumphosphat (pH 7,8, Puffervolumen von etwa 1 ml) durchgeführt werden. Die Analysemethode dazu wurde von Breitenbach und Kollegen (Breitenbach, Kuntz, Takai-chi und Sandmann: Catalytic properties of an expressed and purified higher plant type  $\xi$ -carotene desaturase from *Capsicum annuum*; European Journal of Biochemistry. 265(1):376-383, 1999) publiziert. Jeder Analyseansatz enthält 3 mg Phosphatidylcholin, das in 0,4 M Kaliumphosphatpuffer (pH 7,8) suspendiert ist, 5  $\mu$ g  $\xi$ -Carotin oder Neurosporin, 0,02 % Butylhydroxytoluol, 10  $\mu$ l Decyl-Plastochinon (1 mM methanolische Stammlösung) und Organismenextrakt. Das Volumen des Organismenextraktes muß der Menge an vorhandener ZDS-Desaturase-Aktivität angepasst werden, um Quantifizierungen in einem linearen Messbereich zu ermöglichen. Inkubationen erfolgen typischerweise für etwa 17 Stunden bei kräftigem Schütteln (200 Umdrehungen/Minute) bei etwa 28°C im Dunklen. Carotinoide werden durch Zugabe von 4 ml Aceton bei 50°C für 10 Minuten unter Schütteln extrahiert. Aus dieser Mischung werden die Carotinoide in eine Petroletherphase (mit 10 % Diethylether) überführt. Die Diethylether/Petroletherphase wird unter Stickstoff evaporiert, die Carotinoide wieder in 20  $\mu$ l gelöst und mittels HPLC getrennt und quantifiziert.

Unter crtISO -Aktivität wird die Enzymaktivität eines crtISO-Proteins verstanden.

Unter einem crtISO-Proteins wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, 7,9,7',9'-tetra-cis-Lycopin in all-trans-Lycopin umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter crtISO-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein crtISO umgesetzte Menge 7,9,7',9'-tetra-cis-Lycopin bzw. gebildete Menge all-trans-Lycopin verstanden.

- 5 Bei einer erhöhten crtISO-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das crtISO-Proteins die umgesetzte Menge 7,9,7',9'-tetra-cis-Lycopin bzw. die gebildete Menge all-trans-Lycopin erhöht.

- 10 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der crtISO-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der crtISO-Aktivität des Wildtyps.

Unter FtsZ-Aktivität wird die physiologische Aktivität eines FtsZ-Proteins verstanden.

15

Unter einem FtsZ-Protein wird ein Protein verstanden, das eine Zellteilungs und Plastidenteilungs-fördernde Wirkung hat und Homologien zu Tubulinproteinen aufweist.

Unter MinD -Aktivität wird die physiologische Aktivität eines MinD -Proteins verstanden.

20

Unter einem MinD -Protein wird ein Protein verstanden, das eine multifunktionale Rolle bei der Zellteilung aufweist. Es ist eine Membran-assoziierte ATPase und kann innerhalb der Zelle eine oszillierende Bewegung von Pol zu Pol zeigen.

- 25 Weiterhin kann die Erhöhung der Aktivität von Enzymen des Nicht-Mevalonatweges zu einer weiteren Erhöhung des gewünschten Ketocarotenoid-Endproduktes führen. Beispiele hierfür sind die 4-Diphosphocytidyl-2-C-Methyl-D-Erythritol-Synthase, die 4-Diphosphocytidyl-2-C-Methyl-D-Erythritol-Kinase und die 2-C-Methyl-D-Erythritol-2,4-cyclodiphosphat-Synthase. Durch Änderungen der Genexpression der entsprechenden
- 30 Gene kann die Aktivität der genannten Enzyme erhöht werden. Die veränderten Konzentrationen der relevanten Proteine können standardgemäß mittels Antikörpern und entsprechenden Blotting-techniken nachgewiesen werden.

- 35 Die Erhöhung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität und/oder Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität und/oder Geranylgeranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität und/oder Phytoen-Synthase-Aktivität und/oder
- 40 Phytoen-Desaturase-Aktivität und/oder Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität und/oder



crtISO-Aktivität und/oder FtsZ-Aktivität und/oder MinD-Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Expressions- und Proteinebene oder durch Erhöhung der Genexpression von Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder Nukleinsäuren  
 5 kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend ein crtISO-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein MinD-Protein gegenüber dem Wildtyp.

Die Erhöhung der Genexpression der Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend ein crtISO-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein MinD-Protein gegenüber dem Wildtyp kann ebenfalls durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Induzierung des HMG-CoA-Reduktase-Gens und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gens und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gens und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gens und/oder Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Gens und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Desaturase-Gens und/oder Zeta-Carotin-Desaturase-Gens und/oder crtISO-Gens und/oder FtsZ-Gens und/oder MinD-Gens durch Aktivatoren oder durch Einbringen von einer oder mehrerer Kopien des HMG-CoA-Reduktase-Gens und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gens und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gens und/oder 1-

Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gens und/oder Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Gens und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Desaturase-Gens und/oder Zeta-Carotin-Desaturase-Gens und/oder crtISO-Gens und/oder FtsZ-Gens und/oder MinD-Gens, also durch Einbringen mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein crtISO-Protein und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein FtsZ-Protein und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein MinD-Protein in die Pflanze.

Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Phytoen-Synthase und/oder Phytoen-Desaturase und/oder Zeta-Carotin-Desaturase und/oder ein crtISO-Protein und/oder FtsZ-Protein und/oder MinD-Protein wird erfindungsgemäß auch die Manipulation der Expression der Organismen eigenen, endogenen HMG-CoA-Reduktase und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Phytoen-Synthase und/oder Phytoen-Desaturase und/oder Zeta-Carotin-Desaturase und/oder des Organismen eigenen crtISO-Proteins und/oder FtsZ-Proteins und/oder MinD-Proteins verstanden.

Dies kann beispielsweise durch Veränderung der entsprechenden Promotor DNA-Sequenz erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine erhöhte Expressionsrate

des Gens zur Folge hat, kann beispielsweise durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.

- In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend ein crtISO-Protein und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend ein FtsZ-Protein und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend ein MinD-Protein durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein crtISO-Protein und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein FtsZ-Protein und/oder durch Einbringen von mindestens

tens einer Nukleinsäure kodierend ein MinD-Protein in die Pflanze.

Dazu kann prinzipiell jedes HMG-CoA-Reduktase-Gen bzw. (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gen bzw. Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Gen bzw. Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gen bzw. Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gen bzw. Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gen bzw. Phytoen-Synthase-Gen bzw. Phytoen-Desaturase-Gen bzw. Zeta-Carotin-Desaturase-Gen bzw. crtISO-Gen bzw. FtsZ-Gen bzw. MinD-Gen verwendet werden.

Bei genomischen HMG-CoA-Reduktase-Sequenzen bzw. (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Sequenzen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Sequenzen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Sequenzen bzw. Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Sequenzen bzw. Geranyl-Diphosphat-Synthase-Sequenzen bzw. Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Sequenzen bzw. Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Sequenzen bzw. Phytoen-Synthase-Sequenzen bzw. Phytoen-Desaturase-Sequenzen bzw. Zeta-Carotin-Desaturase-Sequenzen bzw. crtISO-Sequenzen bzw. FtsZ-Sequenzen bzw. MinD-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall das die Wirtspflanze nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden kann, die entsprechenden Proteine zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs zu verwenden.

In den erfindungsgemäßen bevorzugten transgenen Organismen liegt also in dieser bevorzugten Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres HMG-CoA-Reduktase-Gen und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gen und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gen und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gen und/oder Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Gen und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gen und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gen und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gen und/oder Phytoen-Synthase-Gen und/oder Phytoen-Desaturase-Gen und/oder Zeta-Carotin-Desaturase-Gen und/oder crtISO-Gen und/oder FtsZ-Gen und/oder MinD-Gen vor.

In dieser bevorzugten Ausführungsform weist die genetisch veränderte Pflanze beispielsweise mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine HMG-CoA-Reduktase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase oder mindestens zwei endogene

- Nukleinsäuren, kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Desaturase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend ein crtISO-Protein oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend ein crtISO-Protein und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend ein FtsZ-Protein oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend ein FtsZ-Protein und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend ein MinD-Protein oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend ein MinD-Protein auf.

- 30 Beispiele für HMG-CoA-Reduktase-Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine HMG-CoA-Reduktase aus *Arabidopsis thaliana*, Accession NM\_106299; (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 7, Protein: SEQ ID NO: 8),

- 35 sowie weitere HMG-CoA-Reduktase –Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

- P54961, P54870, P54868, P54869, O02734, P22791, P54873, P54871, P23228, P13704, P54872, Q01581, P17425, P54874, P54839, P14891, P34135, O64966, P29057, P48019, P48020, P12683, P43256, Q9XEL8, P34136, O64967, P29058,

P48022, Q41437, P12684, Q00583, Q9XHL5, Q41438, Q9YAS4, O76819, O28538, Q9Y7D2, P54960, O51628, P48021, Q03163, P00347, P14773, Q12577, Q59468, P04035, O24594, P09610, Q58116, O26662, Q01237, Q01559, Q12649, O74164, O59469, P51639, Q10283, O08424, P20715, P13703, P13702, Q96UG4, Q8SQZ9, 5 O15888, Q9TUM4, P93514, Q39628, P93081, P93080, Q944T9, Q40148, Q84MM0, Q84LS3, Q9Z9N4, Q9KLM0

Beispiele für (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene sind:

10 Eine Nukleinsäure, kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase aus *Arabidopsis thaliana* (lytB/ISPH), ACCESSION AY168881, (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 9, Protein: SEQ ID NO:102),

sowie weitere (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase -Gene aus  
15 anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

T04781, AF270978\_1, NP\_485028.1, NP\_442089.1, NP\_681832.1, ZP\_00110421.1, ZP\_00071594.1, ZP\_00114706.1, ISPH\_SYNY3, ZP\_00114087.1, ZP\_00104269.1, AF398145\_1, AF398146\_1, AAD55762.1, AF514843\_1, NP\_622970.1, NP\_348471.1, 20 NP\_562001.1, NP\_223698.1, NP\_781941.1, ZP\_00080042.1, NP\_859669.1, NP\_214191.1, ZP\_00086191.1, ISPH\_VIBCH, NP\_230334.1, NP\_742768.1, NP\_302306.1, ISPH\_MYCLE, NP\_602581.1, ZP\_00026966.1, NP\_520563.1, NP\_253247.1, NP\_282047.1, ZP\_00038210.1, ZP\_00064913.1, CAA61555.1, ZP\_00125365.1, ISPH\_ACICA, EAA24703.1, ZP\_00013067.1, ZP\_00029164.1, 25 NP\_790656.1, NP\_217899.1, NP\_641592.1, NP\_636532.1, NP\_719076.1, NP\_660497.1, NP\_422155.1, NP\_715446.1, ZP\_00090692.1, NP\_759496.1, ISPH\_BURPS, ZP\_00129657.1, NP\_215626.1, NP\_335584.1, ZP\_00135016.1, NP\_789585.1, NP\_787770.1, NP\_769647.1, ZP\_00043336.1, NP\_242248.1, ZP\_00008555.1, NP\_246603.1, ZP\_00030951.1, NP\_670994.1, NP\_404120.1, 30 NP\_540376.1, NP\_733653.1, NP\_697503.1, NP\_840730.1, NP\_274828.1, NP\_796916.1, ZP\_00123390.1, NP\_824386.1, NP\_737689.1, ZP\_00021222.1, NP\_757521.1, NP\_390395.1, ZP\_00133322.1, CAD76178.1, NP\_600249.1, NP\_454660.1, NP\_712601.1, NP\_385018.1, NP\_751989.1

35 Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase -Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase aus *Lycopersicon esculentum*, ACCESSION #AF143812 (Nukleinsäure: SEQ ID NO:103, Protein: SEQ ID NO: 12),

sowie weitere 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase –Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

- AF143812\_1, DXS\_CAPAN, CAD22530.1, AF182286\_1, NP\_193291.1, T52289, AAC49368.1, AAP14353.1, D71420, DXS\_ORYSA, AF443590\_1, BAB02345.1,
- 5 CAA09804.2, NP\_850620.1, CAD22155.2, AAM65798.1, NP\_566686.1, CAD22531.1, AAC33513.1, CAC08458.1, AAG10432.1, T08140, AAP14354.1, AF428463\_1, ZP\_00010537.1, NP\_769291.1, AAK59424.1, NP\_107784.1, NP\_697464.1, NP\_540415.1, NP\_196699.1, NP\_384986.1, ZP\_00096461.1, ZP\_00013656.1, NP\_353769.1, BAA83576.1, ZP\_00005919.1, ZP\_00006273.1, NP\_420871.1;
- 10 AAM48660.1, DXS\_RHOCA, ZP\_00045608.1, ZP\_00031686.1, NP\_841218.1, ZP\_00022174.1, ZP\_00086851.1, NP\_742690.1, NP\_520342.1, ZP\_00082120.1, NP\_790545.1, ZP\_00125266.1, CAC17468.1, NP\_252733.1, ZP\_00092466.1, NP\_439591.1, NP\_414954.1, NP\_752465.1, NP\_622918.1, NP\_286162.1, NP\_836085.1, NP\_706308.1, ZP\_00081148.1, NP\_797065.1, NP\_213598.1,
- 15 NP\_245469.1, ZP\_00075029.1, NP\_455016.1, NP\_230536.1, NP\_459417.1, NP\_274863.1, NP\_283402.1, NP\_759318.1, NP\_406652.1, DXS\_SYNLE, DXS\_SYNP7, NP\_440409.1, ZP\_00067331.1, ZP\_00122853.1, NP\_717142.1, ZP\_00104889.1, NP\_243645.1, NP\_681412.1, DXS\_SYNEL, NP\_637787.1, DXS\_CHLTE, ZP\_00129863.1, NP\_661241.1, DXS\_XANCP, NP\_470738.1,
- 20 NP\_484643.1, ZP\_00108360.1, NP\_833890.1, NP\_846629.1, NP\_658213.1, NP\_642879.1, ZP\_00039479.1, ZP\_00060584.1, ZP\_00041364.1, ZP\_00117779.1, NP\_299528.1

Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gene sind:

- 25 Eine Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aus *Arabidopsis thaliana*, ACCESSION #AF148852, (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 13 , Protein: SEQ ID NO: 14),

sowie weitere 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase –Gene aus anderen

- 30 Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

- AF148852, AY084775, AY054682, AY050802, AY045634, AY081453, AY091405, AY098952, AJ242588, AB009053, AY202991, NP\_201085.1, T52570, AF331705\_1, BAB16915.1, AF367205\_1, AF250235\_1, CAC03581.1, CAD22156.1, AF182287\_1,
- 35 DXR\_MENPI, ZP\_00071219.1, NP\_488391.1, ZP\_00111307.1, DXR\_SYNLE, AAP56260.1, NP\_681831.1, NP\_442113.1, ZP\_00115071.1, ZP\_00105106.1, ZP\_00113484.1, NP\_833540.1, NP\_657789.1, NP\_661031.1, DXR\_BACHD, NP\_833080.1, NP\_845693.1, NP\_562610.1, NP\_623020.1, NP\_810915.1, NP\_243287.1, ZP\_00118743.1, NP\_464842.1, NP\_470690.1, ZP\_00082201.1,
- 40 NP\_781898.1, ZP\_00123667.1, NP\_348420.1, NP\_604221.1, ZP\_00053349.1,

ZP\_00064941.1, NP\_246927.1, NP\_389537.1, ZP\_00102576.1, NP\_519531.1, AF124757\_19, DXR\_ZYMMO, NP\_713472.1, NP\_459225.1, NP\_454827.1, ZP\_00045738.1, NP\_743754.1, DXR\_PSEPK, ZP\_00130352.1, NP\_702530.1, NP\_841744.1, NP\_438967.1, AF514841\_1, NP\_706118.1, ZP\_00125845.1, 5 NP\_404661.1, NP\_285867.1, NP\_240064.1, NP\_414715.1, ZP\_00094058.1, NP\_791365.1, ZP\_00012448.1, ZP\_00015132.1, ZP\_00091545.1, NP\_629822.1, NP\_771495.1, NP\_798691.1, NP\_231885.1, NP\_252340.1, ZP\_00022353.1, NP\_355549.1, NP\_420724.1, ZP\_00085169.1, EAA17616.1, NP\_273242.1, NP\_219574.1, NP\_387094.1, NP\_296721.1, ZP\_00004209.1, NP\_823739.1, 10 NP\_282934.1, BAA77848.1, NP\_660577.1, NP\_760741.1, NP\_641750.1, NP\_636741.1, NP\_829309.1, NP\_298338.1, NP\_444964.1, NP\_717246.1, NP\_224545.1, ZP\_00038451.1, DXR\_KITGR, NP\_778563.1.

Beispiele für Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Gene sind:

15

Eine Nukleinsäure, kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase aus Adonis palaestina clone ApIP128, (ipiAa1), ACCESSION #AF188060, veröffentlicht durch Cunningham, F.X. Jr. and Gantt, E.: Identification of multi-gene families encoding isopentenyl diphosphate isomerase in plants by heterologous complementation in Escherichia coli, Plant Cell Physiol. 41 (1), 119-123 (2000) (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 15, Protein: 20 SEQ ID NO: 16),

sowie weitere Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

25

Q38929, O48964, Q39472, Q13907, O35586, P58044, O42641, O35760, Q10132, P15496, Q9YB30, Q8YNH4, Q42553, O27997, P50740, O51627, O48965, Q8KFR5, Q39471, Q39664, Q9RVE2, Q01335, Q9HHE4, Q9BXS1, Q9KWF6, Q9CIF5, Q88WB6, Q92BX2, Q8Y7A5, Q8TT35, Q9KK75, Q8NN99, Q8XD58, Q8FE75, 30 Q46822, Q9HP40, P72002, P26173, Q9Z5D3, Q8Z3X9, Q8ZM82, Q9X7Q6, O13504, Q9HFW8, Q8NJL9, Q9UUQ1, Q9NH02, Q9M6K9, Q9M6K5, Q9FXR6, O81691, Q9S7C4, Q8S3L8, Q9M592, Q9M6K3, Q9M6K7, Q9FV48, Q9LLB6, Q9AVJ1, Q9AVG8, Q9M6K6, Q9AVJ5, Q9M6K2, Q9AYS5, Q9M6K8, Q9AVG7, Q8S3L7, Q8W250, Q94IE1, Q9AVI8, Q9AYS6, Q9SAY0, Q9M6K4, Q8GVZ0, Q84RZ8, 35 Q8KZ12, Q8KZ66, Q8FND7, Q88QC9, Q8BFZ6, BAC26382, CAD94476.

Beispiele für Geranyl-Diphosphat-Synthase -Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase aus Arabidopsis thaliana, ACCESSION #Y17376, Bouvier, F., Suire, C., d'Harlingue, A., Backhaus, R.A. and 40



Camara,B.; Molecular cloning of geranyl diphosphate synthase and compartmentation of monoterpene synthesis in plant cells, Plant J. 24 (2), 241-252 (2000) (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 17, Protein: SEQ ID NO: 18),

- 5 sowie weitere Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

Q9FT89, Q8LKJ2, Q9FSW8, Q8LKJ3, Q9SBR3, Q9SBR4, Q9FET8, Q8LKJ1, Q84LG1, Q9JK86

10

Beispiele für Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene sind:

- Eine Nukleinsäure, kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase aus *Arabidopsis thaliana* (FPS1), ACCESSION #U80605, veröffentlicht durch Cunillera,N., Arro,M., De-  
15 lourme,D., Karst,F., Boronat,A. und Ferrer,A.: *Arabidopsis thaliana* contains two differentially expressed farnesyl-diphosphate synthase genes, J. Biol. Chem. 271 (13), 7774-7780 (1996), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 19, Protein: SEQ ID NO:112),

- 20 sowie weitere Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

- P53799, P37268, Q02769, Q09152, P49351, O24241, Q43315, P49352, O24242, P49350, P08836, P14324, P49349, P08524, O66952, Q08291, P54383, Q45220, P57537, Q8K9A0, P22939, P45204, O66126, P55539, Q9SWH9, Q9AVI7, Q9FRX2,  
25 Q9AYS7, Q94IE8, Q9FXR9, Q9ZWF6, Q9FXR8, Q9AR37, O50009, Q94IE9, Q8RVK7, Q8RVQ7, O04882, Q93RA8, Q93RB0, Q93RB4, Q93RB5, Q93RB3, Q93RB1, Q93RB2, Q920E5.

- 30 Beispiele für Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase -Gene sind:

- Eine Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase aus *Sinaps alba*, ACCESSION #X98795, veröffentlicht durch Bonk,M., Hoffmann,B., Von Lintig,J., Schledz,M., Al-Babili,S., Hobeika,E., Kleinig,H. and Beyer,P.: Chloroplast import of four  
35 carotenoid biosynthetic enzymes in vitro reveals differential fates prior to membrane binding and oligomeric assembly, Eur. J. Biochem. 247 (3), 942-950 (1997), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 21, Protein: SEQ ID NO:114),

- 40 sowie weitere Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

P22873, P34802, P56966, P80042, Q42698, Q92236, Q95749, Q9WTN0, Q50727, P24322, P39464, Q9FXR3, Q9AYN2, Q9FXR2, Q9AVG6, Q9FRW4, Q9SXZ5, Q9AVJ7, Q9AYN1, Q9AVJ4, Q9FXR7, Q8LSC5, Q9AVJ6, Q8LSC4, Q9AVJ3, Q9SSU0, Q9SXZ6, Q9SST9, Q9AVJ0, Q9AVI9, Q9FRW3, Q9FXR5, Q94IF0,  
 5 Q9FRX1, Q9K567, Q93RA9, Q93QX8, CAD95619, EAA31459

Beispiele für Phytoen-Synthase-Gene sind:

10 Eine Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Synthase aus *Erwinia uredovora*, ACCES-  
 SION # D90087; veröffentlicht durch Misawa, N., Nakagawa, M., Kobayashi, K., Yama-  
 no, S., Izawa, Y., Nakamura, K. und Harashima, K.: Elucidation of the *Erwinia uredovora*  
 carotenoid biosynthetic pathway by functional analysis of gene products expressed in  
*Escherichia coli*; J. Bacteriol. 172 (12), 6704-6712 (1990), (Nukleinsäure: SEQ ID NO:  
 23, Protein: SEQ ID NO: 24),

15

sowie weitere Phytoen-Synthase -Gene aus anderen Organismen mit den folgenden  
 Accession Nummern:

20 CAB39693, BAC69364, AAF10440, CAA45350, BAA20384, AAM72615, BAC09112,  
 CAA48922, P\_001091, CAB84588, AAF41518, CAA48155, AAD38051, AAF33237,  
 AAG10427, AAA34187, BAB73532, CAC19567, AAM62787, CAA55391, AAB65697,  
 AAM45379, CAC27383, AAA32836, AAK07735, BAA84763, P\_000205, AAB60314,  
 P\_001163, P\_000718, AAB71428, AAA34153, AAK07734, CAA42969, CAD76176,  
 CAA68575, P\_000130, P\_001142, CAA47625, CAA85775, BAC14416, CAA79957,  
 25 BAC76563, P\_000242, P\_000551, AAL02001, AAK15621, CAB94795, AAA91951,  
 P\_000448

Beispiele für Phytoen-Desaturase-Gene sind:

30 Eine Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Desaturase aus *Erwinia uredovora*, AC-  
 CESSION # D90087; veröffentlicht durch Misawa, N., Nakagawa, M., Kobayashi, K.,  
 Yamano, S., Izawa, Y., Nakamura, K. und Harashima, K.: Elucidation of the *Erwinia ure-*  
*dovora* carotenoid biosynthetic pathway by functional analysis of gene products ex-  
 pressed in *Escherichia coli*; J. Bacteriol. 172 (12), 6704-6712 (1990), (Nukleinsäure:  
 35 SEQ ID NO: 25, Protein: SEQ ID NO: 26),

sowie weitere Phytoen-Desaturase -Gene aus anderen Organismen mit den folgenden  
 Accession Nummern:

AAL15300, A39597, CAA42573, AAK51545, BAB08179, CAA48195, BAB82461, AAK92625, CAA55392, AAG10426, AAD02489, AAO24235, AAC12846, AAA99519, AAL38046, CAA60479, CAA75094, ZP\_001041, ZP\_001163, CAA39004, CAA44452, ZP\_001142, ZP\_000718, BAB82462, AAM45380, CAB56040, ZP\_001091, BAC09113, 5 AAP79175, AAL80005, AAM72642, AAM72043, ZP\_000745, ZP\_001141, BAC07889, CAD55814, ZP\_001041, CAD27442, CAE00192, ZP\_001163, ZP\_000197, BAA18400, AAG10425, ZP\_001119, AAF13698, 2121278A, AAB35386, AAD02462, BAB68552, CAC85667, AAK51557, CAA12062, AAG51402, AAM63349, AAF85796, BAB74081, AAA91161, CAB56041, AAC48983, AAG14399, CAB65434, BAB73487, ZP\_001117, 10 ZP\_000448, CAB39695, CAD76175, BAC69363, BAA17934, ZP\_000171, AAF65586, ZP\_000748, BAC07074, ZP\_001133, CAA64853, BAB74484, ZP\_001156, AAF23289, AAG28703, AAP09348, AAM71569, BAB69140, ZP\_000130, AAF41516, AAG18866, CAD95940, NP\_656310, AAG10645, ZP\_000276, ZP\_000192, ZP\_000186, AAM94364, EAA31371, ZP\_000612, BAC75676, AAF65582

15

Beispiele für Zeta-Carotin-Desaturase-Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase aus *Narcissus pseudonarcissus*, ACCESSION #AJ224683, veröffentlicht durch Al-Babili, S., Oelschlegel, J. and 20 Beyer, P.: A cDNA encoding for beta carotene desaturase (Accession No. AJ224683) from *Narcissus pseudonarcissus* L. (PGR98-103), *Plant Physiol.* 117, 719-719 (1998), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 119, Protein: SEQ ID NO: 28),

25 sowie weitere Zeta-Carotin-Desaturase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

Q9R6X4, Q38893, Q9SMJ3, Q9SE20, Q9ZTP4, O49901, P74306, Q9FV46, Q9RCT2, ZDS\_NARPS, BAB68552.1, CAC85667.1, AF372617\_1, ZDS\_TARER, CAD55814.1, CAD27442.1, 2121278A, ZDS\_CAPAN, ZDS\_LYCES, NP\_187138.1, AAM63349.1, 30 ZDS\_ARATH, AAA91161.1, ZDS\_MAIZE, AAG14399.1, NP\_441720.1, NP\_486422.1, ZP\_00111920.1, CAB56041.1, ZP\_00074512.1, ZP\_00116357.1, NP\_681127.1, ZP\_00114185.1, ZP\_00104126.1, CAB65434.1, NP\_662300.1

35 Beispiele für crtISO-Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine crtISO aus *Lycopersicon esculentum*; ACCESSION #AF416727, veröffentlicht durch Isaacson, T., Ronen, G., Zamir, D. and Hirschberg, J.: Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of beta-carotene and xanthophylls in plants; *Plant Cell* 14 (2), 333-342 (2002),

(Nukleinsäure: SEQ ID NO: 29, Protein: SEQ ID NO:122),

sowie weitere crtISO –Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

5

AAM53952

Beispiele für FtsZ-Gene sind:

- 10 Eine Nukleinsäure, kodierend eine FtsZ aus *Tagetes erecta*, ACCESSION #AF251346, veröffentlicht durch Moehts, C.P., Tian, L., Osteryoung, K.W. and Dellapenna, D.: Analysis of carotenoid biosynthetic gene expression during marigold petal development Plant Mol. Biol. 45 (3), 281-293 (2001), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 31, Protein: SEQ ID NO: 32),

15

sowie weitere FtsZ –Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

- 20 CAB89286.1, AF205858\_1, NP\_200339.1, CAB89287.1, CAB41987.1, AAA82068.1, T06774, AF383876\_1, BAC57986.1, CAD22047.1, BAB91150.1, ZP\_00072546.1, NP\_440816.1, T51092, NP\_683172.1, BAA85116.1, NP\_487898.1, JC4289, BAA82871.1, NP\_781763.1, BAC57987.1, ZP\_00111461.1, T51088, NP\_190843.1, ZP\_00060035.1, NP\_846285.1, AAL07180.1, NP\_243424.1, NP\_833626.1, AAN04561.1, AAN04557.1, CAD22048.1, T51089, NP\_692394.1, NP\_623237.1, 25 NP\_565839.1, T51090, CAA07676.1, NP\_113397.1, T51087, CAC44257.1, E84778, ZP\_00105267.1, BAA82091.1, ZP\_00112790.1, BAA96782.1, NP\_348319.1, NP\_471472.1, ZP\_00115870.1, NP\_465556.1, NP\_389412.1, BAA82090.1, NP\_562681.1, AAM22891.1, NP\_371710.1, NP\_764416.1, CAB95028.1, FTSZ\_STRGR, AF120117\_1, NP\_827300.1, JE0282, NP\_626341.1, AAC45639.1, 30 NP\_785689.1, NP\_336679.1, NP\_738660.1, ZP\_00057764.1, AAC32265.1, NP\_814733.1, FTSZ\_MYCKA, NP\_216666.1, CAA75616.1, NP\_301700.1, NP\_601357.1, ZP\_00046269.1, CAA70158.1, ZP\_00037834.1, NP\_268026.1, FTSZ\_ENTHR, NP\_787643.1, NP\_346105.1, AAC32264.1, JC5548, AAC95440.1, NP\_710793.1, NP\_687509.1, NP\_269594.1, AAC32266.1, NP\_720988.1, 35 NP\_657875.1, ZP\_00094865.1, ZP\_00080499.1, ZP\_00043589.1, JC7087, NP\_660559.1, AAC46069.1, AF179611\_14, AAC44223.1, NP\_404201.1.

Beispiele für MinD -Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine MinD aus *Tagetes erecta*, ACCESSION #AF251019, veröffentlicht durch Moehs, C.P., Tian, L., Osteryoung, K.W. und Dellapenna, D.: Analysis of carotenoid biosynthetic gene expression during marigold petal development; Plant Mol. Biol. 45 (3), 281-293 (2001), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 33, Protein: SEQ ID NO: 34),

sowie weitere MinD -Gene mit den folgenden Accession Nummern:

- NP\_197790.1, BAA90628.1, NP\_038435.1, NP\_045875.1, AAN33031.1,  
 10 NP\_050910.1, CAB53105.1, NP\_050687.1, NP\_682807.1, NP\_487496.1,  
 ZP\_00111708.1, ZP\_00071109.1, NP\_442592.1, NP\_603083.1, NP\_782631.1,  
 ZP\_00097367.1, ZP\_00104319.1, NP\_294476.1, NP\_622555.1, NP\_563054.1,  
 NP\_347881.1, ZP\_00113908.1, NP\_834154.1, NP\_658480.1, ZP\_00059858.1,  
 NP\_470915.1, NP\_243893.1, NP\_465069.1, ZP\_00116155.1, NP\_390677.1,  
 15 NP\_692970.1, NP\_298610.1, NP\_207129.1, ZP\_00038874.1, NP\_778791.1,  
 NP\_223033.1, NP\_641561.1, NP\_636499.1, ZP\_00088714.1, NP\_213595.1,  
 NP\_743889.1, NP\_231594.1, ZP\_00085067.1, NP\_797252.1, ZP\_00136593.1,  
 NP\_251934.1, NP\_405629.1, NP\_759144.1, ZP\_00102939.1, NP\_793645.1,  
 NP\_699517.1, NP\_460771.1, NP\_860754.1, NP\_456322.1, NP\_718163.1,  
 20 NP\_229666.1, NP\_357356.1, NP\_541904.1, NP\_287414.1, NP\_660660.1,  
 ZP\_00128273.1, NP\_103411.1, NP\_785789.1, NP\_715361.1, AF149810.1,  
 NP\_841854.1, NP\_437893.1, ZP\_00022726.1, EAA24844.1, ZP\_00029547.1,  
 NP\_521484.1, NP\_240148.1, NP\_770852.1, AF345908.2, NP\_777923.1,  
 ZP\_00048879.1, NP\_579340.1, NP\_143455.1, NP\_126254.1, NP\_142573.1,  
 25 NP\_613505.1, NP\_127112.1, NP\_712786.1, NP\_578214.1, NP\_069530.1,  
 NP\_247526.1, AAA85593.1, NP\_212403.1, NP\_782258.1, ZP\_00058694.1,  
 NP\_247137.1, NP\_219149.1, NP\_276946.1, NP\_614522.1, ZP\_00019288.1,  
 CAD78330.1
- 30 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als HMG-CoA-Reduktase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 8, und die die enzymatische Eigenschaft einer HMG-CoA-Reduktase aufweisen.

- 40 Weitere Beispiele für HMG-CoA-Reduktasen und HMG-CoA-Reduktase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz

bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 8 leicht auffinden.

- 5 Weitere Beispiele für HMG-CoA-Reduktasen und HMG-CoA-Reduktase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 7 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

- 10 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der HMG-CoA-Reduktase der Sequenz SEQ ID NO: 8.

- 15 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

- 20 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

- 25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 7 in den Organismus ein.

- 30 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 10 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70%, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 10, und die die enzymatische Eigenschaft einer (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase aufweisen.

- 35 Weitere Beispiele für (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktasen und (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie  
40 vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder

der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 10 leicht auffinden.

5 Weitere Beispiele für (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktasen und (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 9 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

10 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase der Sequenz SEQ ID NO: 10.

15 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

20 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 9 in den Organismus ein.

30 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 12 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70%, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 12, und die die enzymatische Eigenschaft einer (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase aufweisen.

35 Weitere Beispiele für (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthasen und (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 12 leicht

40

auffinden.

Weitere Beispiele für (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthasen und (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend  
5 von der Sequenz SEQ ID NO: 11 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der (1-  
10 Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 12.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der  
15 Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.  
20

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 11 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 14, und die die enzymatische Eigenschaft einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aufweisen.  
25  
30

Weitere Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerasen und 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID  
35



NO: 14 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerasen und 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise  
5 ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 13 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der 1-  
10 Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase der Sequenz SEQ ID NO: 14.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der  
15 Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.  
20

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 13 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform  
25 als Isopentenyl-D-Isomerase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 16 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 16, und die die enzymatische Eigenschaft  
30 einer Isopentenyl-D-Isomerase aufweisen.

Weitere Beispiele für Isopentenyl-D-Isomerasen und Isopentenyl-D-Isomerase-Gene  
35 lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 16 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für Isopentenyl-D-Isomerasen und Isopentenyl-D-Isomerase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 15 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Isopentenyl-D-Isomerase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Isopentenyl-D-Isomerase der Sequenz SEQ ID NO: 16.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 15 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 18 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 18, und die die enzymatische Eigenschaft einer Geranyl-Diphosphat-Synthase aufweisen.

Weitere Beispiele für Geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 18 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für Geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 17 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht be-

kannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

- 5 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Geranyl-Diphosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 18.

- 10 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

- 15 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 17 in den Organismus ein.

- 20 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 %  
25 auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 20, und die die enzymatische Eigenschaft einer Farnesyl-Diphosphat-Synthase aufweisen.

- 30 Weitere Beispiele für Farnesyl-Diphosphat-Synthasen und Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 20 leicht auffinden.

- 35 Weitere Beispiele für Farnesyl-Diphosphat-Synthasen und Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 19 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Farnesyl-Diphosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 20.

5

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

10 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

15 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 19 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 22 oder eine von dieser Sequenz  
20 durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 22, und die die enzymatische Eigenschaft einer Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase aufweisen.

25

Weitere Beispiele für Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 22 leicht auffinden.  
30

Weitere Beispiele für Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 21 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz  
35 nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen einge-  
40 bracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Geranyl-geranyl-

Diphosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 22.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

5

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

10

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 21 in den Organismus ein.

15

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Phytoen-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 24 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 24, und die die enzymatische Eigenschaft einer Phytoen-Synthase aufweisen.

20

25

Weitere Beispiele für Phytoen-Synthasen und Phytoen-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 24 leicht auffinden.

30

Weitere Beispiele für Phytoen-Synthasen und Phytoen-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 23 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

35

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Phytoen-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Phytoen-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 24.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

5 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

10 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 23 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Phytoen-Desaturase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 26, und die die enzymatische Eigenschaft einer Phytoen-Desaturase aufweisen.

20 Weitere Beispiele für Phytoen-Desaturasen und Phytoen-Desaturase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 26 leicht auffinden.

30 Weitere Beispiele für Phytoen-Desaturasen und Phytoen-Desaturase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 25 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

35 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Phytoen-Desaturase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Phytoen-Desaturase der Sequenz SEQ ID NO: 26.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

5

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 25 in den Organismus ein.

10 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Zeta-Carotin-Desaturase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 28 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 28, und die die enzymatische Eigenschaft  
15 einer Zeta-Carotin-Desaturase aufweisen.

Weitere Beispiele für Zeta-Carotin-Desaturasen und Zeta-Carotin-Desaturase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SEQ ID NO: 28 leicht auffinden.  
20

Weitere Beispiele für Zeta-Carotin-Desaturasen und Zeta-Carotin-Desaturase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 119 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.  
25

30 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Zeta-Carotin-Desaturase der Sequenz SEQ ID NO: 28.

35 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Orga-  
40

nismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 119 in den Organismus ein.

5

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als CrtISO-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 30 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30

10

%, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 30, und die die enzymatische Eigenschaft einer CrtIso aufweisen.

15

Weitere Beispiele für CrtISO und CrtISO-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 30 leicht auffinden.

20

Weitere Beispiele für CrtISO und CrtISO-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 29 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

25

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der CrtISO-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der CrtISO der Sequenz SEQ ID NO: 30.

30

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich

35

anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 29 in den Organismus ein.

40



Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als FtsZ-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30  
5 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 32, und die die enzymatische Eigenschaft einer FtsZ aufweisen.

10 Weitere Beispiele für FtsZn und FtsZ-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 32 leicht auffinden.

15 Weitere Beispiele für FtsZn und FtsZ-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 31 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

20 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der FtsZ-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der FtsZ der Sequenz SEQ ID NO: 32

25 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

30 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 31 in den Organismus ein.

35 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als MinD-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 34 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30  
40 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der

Sequenz SEQ ID NO: 34, und die die enzymatische Eigenschaft einer MinD aufweisen.

Weitere Beispiele für MinDn und MinD-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 34 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für MinDn und MinD-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 33 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der MinD-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der MinD der Sequenz SEQ ID NO: 34.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 33 in den Organismus ein.

Alle vorstehend erwähnten HMG-CoA-Reduktase-Gene, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gene, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gene, Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Gene, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene, Phytoen-Synthase-Gene, Phytoen-Desaturase-Gene, Zeta-Carotin-Desaturase-Gene, crtI-SO-Gene, FtsZ-Gene oder MinD-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebausteine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer

Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, beschrieben.

5

Die Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, Nukleinsäuren kodierend eine  $\beta$ -Hydroxylase, Nukleinsäuren kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70  
10 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, sowie die Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-  
15 Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und/oder Nukleinsäuren  
20 kodierend ein MinD Protein werden im folgenden auch "Effektgene" genannt.

Die Herstellung der genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen kann, wie nachstehend beschrieben, beispielsweise durch Einbringen einzelner Nukleinsäurekonstrukte (Expressionskassetten), enthaltend ein Effektgen oder durch Einbringen von  
25 Mehrfachkonstrukten erfolgen, die bis zu zwei oder drei der Effektgene enthalten oder mehr als drei Effektgene

Unter Organismen werden erfindungsgemäß vorzugsweise Organismen verstanden, die als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen natürlicherweise oder durch genetische Komplementierung und/oder Umregulierung der Stoffwechselwege in der Lage sind, Carotinoide, insbesondere  $\beta$ -Carotin und/oder Zeaxanthin und/oder Neoxanthin und/oder Violaxanthin und/oder Lutein herzustellen.  
30

Weiter bevorzugte Organismen weisen als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen bereits eine Hydroxylase-Aktivität auf und sind somit als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen in der Lage, Zeaxanthin herzustellen.  
35

Bevorzugte Organismen sind Pflanzen oder Mikroorganismen, wie beispielsweise Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze.

- 5 Als Bakterien können sowohl Bakterien verwendet werden, die aufgrund des Einbringens von Genen der Carotinoidbiosynthese eines Carotinoid-produzierenden Organismus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren, wie beispielsweise Bakterien der Gattung *Escherichia*, die beispielsweise crt-Gene aus *Erwinia* enthalten, als auch Bakterien, die von sich aus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren wie beispielsweise Bakterien der Gattung *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*,  
10 *Paracoccus*, *Nostoc* oder Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*.

- Bevorzugte Bakterien sind *Escherichia coli*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia uredovora*, *Agrobacterium aurantiacum*, *Alcaligenes* sp. PC-1, *Flavobacterium* sp. strain R1534, das Cyanobakterium *Synechocystis* sp. PCC6803, *Paracoccus marcusii* oder *Paracoccus carotinifaciens*.  
15

- Bevorzugte Hefen sind *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia* oder *Phaffia*. Besonders bevorzugte Hefen sind *Xanthophyllomyces dendrorhous* oder *Phaffia rhodozyma*.  
20

- Bevorzugte Pilze sind *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, insbesondere *Blakeslea trispora*, *Phycomyces*, *Fusarium* oder weitere in Indian Chem. Engr. Section B. Vol. 37, No. 1, 2 (1995) auf Seite 15, Tabelle 6 beschriebene Pilze.

- 25 Bevorzugte Algen sind Grünalgen, wie beispielsweise Algen der Gattung *Haematococcus*, *Phaedactylum tricomatum*, *Volvox* oder *Dunaliella*. Besonders bevorzugte Algen sind *Haematococcus puvialis* oder *Dunaliella bardawil*.

- Weitere brauchbare Mikroorganismen und deren Herstellung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens sind beispielsweise aus der DE-A-199 16 140 bekannt, worauf hiermit Bezug genommen wird.  
30

- Besonders bevorzugte Pflanzen sind Pflanzen ausgewählt aus den Familien Amaranthaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Begoniaceae, Berberidaceae, Brassicaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Geraniaceae, Graminae, Illiaceae, Labiatae, Lamiaceae, Leguminosae, Liliaceae, Linaceae, Lobeliaceae, Malvaceae, Oleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae,  
35 Rubiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae, Umbelliferae, Verbana-  
40

ceae, Vitaceae und Violaceae.

- Ganz besonders bevorzugte Pflanzen sind ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Amica*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*, *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcubita*, *Cytisus*, *Delonia*, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschischoltzia*, *Forsythia*, *Fremontia*, *Gazania*, *Gelsemium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Grevillea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hisbiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*, *Hypochoeris*, *Impatiens*, *Iris*, *Jacaranda*, *Kerria*, *Laburnum*, *Lathyrus*, *Leontodon*, *Lilium*, *Linum*, *Lotus*, *Lycopersicon*, *Lysimachia*, *Marattia*, *Medicago*, *Mimulus*, *Narcissus*, *Oenothera*, *Osmanthus*, *Petunia*, *Photinia*, *Physalis*, *Phyteuma*, *Potentilla*, *Pyracantha*, *Ranunculus*, *Rhododendron*, *Rosa*, *Rudbeckia*, *Senecio*, *Silene*, *Silphium*, *Sinapsis*, *Sorbus*, *Spartium*, *Tecoma*, *Torenia*, *Tragopogon*, *Trollius*, *Tropaeolum*, *Tulipa*, *Tussilago*, *Ulex*, *Viola* oder *Zinnia*, besonders bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Lycopersicon*, *Rosa*, *Calendula*, *Physalis*, *Medicago*, *Helianthus*, *Chrysanthemum*, *Aster*, *Tulipa*, *Narcissus*, *Petunia*, *Geranium*, *Tropaeolum* oder *Adonis*.
- 20 Im erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden wird vorzugsweise dem Kultivierungsschritt der genetisch veränderten Organismen ein Ernten der Organismen und weiter bevorzugt zusätzlich ein Isolieren von Ketocarotinoiden aus den Organismen angeschlossen.
- 25 Das Ernten der Organismen erfolgt in an sich bekannter Weise dem jeweiligen Organismus entsprechend. Mikroorganismen, wie Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze oder Pflanzenzellen, die durch Fermentation in flüssigen Nährmedien kultiviert werden, können beispielsweise durch Zentrifugieren, Dekantieren oder Filtrieren abgetrennt werden. Pflanzen werden in an sich bekannter Weise auf Nährböden gezogen und entsprechend geerntet.
- 30 Die Kultivierung der genetisch veränderten Mikroorganismen erfolgt bevorzugt in Gegenwart von Sauerstoff bei einer Kultivierungstemperatur von mindestens etwa 20°C, wie z.B. 20°C bis 40°C, und einem pH-Wert von etwa 6 bis 9. Bei genetisch veränderten Mikroorganismen erfolgt vorzugsweise zunächst die Kultivierung der Mikroorganismen in Gegenwart von Sauerstoff und in einem Komplexmedium, wie z.B. TB- oder LB- Medium bei einer Kultivierungstemperatur von etwa 20 °C oder mehr, und einem pH-Wert von etwa 6 bis 9, bis eine ausreichende Zelldichte erreicht ist. Um die Oxidationsreaktion besser steuern zu können, bevorzugt man die Verwendung eines induzierbaren Promotors. Die Kultivierung wird nach Induktion der Ketolaseexpression in Ge-

genwart von Sauerstoff, z.B. 12 Stunden bis 3 Tage, fortgesetzt.

Die Isolierung der Ketocarotinoide aus der geernteten Biomasse erfolgt in an sich bekannter Weise, beispielsweise durch Extraktion und gegebenenfalls weiterer chemische oder physikalischer Reinigungsprozesse, wie beispielsweise Fällungsmethoden, Kristallographie, thermische Trennverfahren, wie Rektifizierverfahren oder physikalische Trennverfahren, wie beispielsweise Chromatographie.

Wie nachstehend erwähnt, können die Ketocarotinoide in den erfindungsgemäßen, genetisch veränderten Pflanzen vorzugsweise in verschiedenen Pflanzengeweben, wie beispielsweise Samen, Blätter, Früchte, Blüten, insbesondere in Blütenblättern spezifisch hergestellt werden.

Die Isolierung von Ketocarotinoiden aus den geernteten Blütenblättern erfolgt in an sich bekannter Weise, beispielsweise durch Trocknung und anschließender Extraktion und gegebenenfalls weiterer chemischer oder physikalischer Reinigungsprozesse, wie beispielsweise Fällungsmethoden, Kristallographie, thermische Trennverfahren, wie Rektifizierverfahren oder physikalische Trennverfahren, wie beispielsweise Chromatographie. Die Isolierung von Ketocarotinoiden aus den Blütenblättern erfolgt beispielsweise bevorzugt durch organische Lösungsmittel wie Aceton, Hexan, Ether oder tert.-Methylbutylether.

Weitere Isolierverfahren von Ketocarotinoiden, insbesondere aus Blütenblättern, sind beispielsweise in Egger und Kleinig (Phytochemistry (1967) 6, 437-440) und Egger (Phytochemistry (1965) 4, 609-618) beschrieben.

Vorzugsweise sind die Ketocarotinoide ausgewählt aus der Gruppe Astaxanthin, Canthaxanthin, Echinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin.

Ein besonders bevorzugtes Ketocarotinoid ist Astaxanthin.

Je nach verwendetem Organismus fallen die Ketocarotinoide in freier Form oder als Fettsäureester an oder als Diglucoside

In Blütenblättern von Pflanzen fallen die Ketocarotinide im erfindungsgemäßen Verfahren in Form ihrer Mono- oder Diester mit Fettsäuren an. Einige nachgewiesene Fettsäuren sind z.B. Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, Linolensäure, und Laurinsäure (Kamata und Simpson (1987) Comp. Biochem. Physiol. Vol. 86B(3),

587-591).

Die Herstellung der Ketocarotinoide kann in der ganzen Pflanze oder in einer bevorzugten Ausführungsform spezifisch in Pflanzengewebe, die Chromoplasten enthalten, erfolgen. Bevorzugte Pflanzengewebe sind beispielsweise Wurzeln, Samen, Blätter, Früchte, Blüten und insbesondere Nektarien und Blütenblätter, die auch Petalen bezeichnet werden.

10 In einer besonderen bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahrens verwendet man genetisch veränderte Pflanzen, die in Blüten die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen.

Vorzugsweise wird dies dadurch erreicht, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines blütenspezifischen Promotors erfolgt. Beispielsweise werden dazu die 15 vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, wie nachstehend ausführlich beschrieben, in einem Nukleinsäurekonstrukt funktionell verknüpft mit einem blütenspezifischen Promotor in die Pflanze eingebracht.

20 In einer weiteren, besonderen bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahrens verwendet man genetisch veränderte Pflanzen, die in Früchten die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen.

Vorzugsweise wird dies dadurch erreicht, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines fruchtspezifischen Promotors erfolgt. Beispielsweise werden dazu die 25 vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, wie nachstehend ausführlich beschrieben, in einem Nukleinsäurekonstrukt funktionell verknüpft mit einem fruchtspezifischen Promotor in die Pflanze eingebracht.

30 In einer weiteren, besonderen bevorzugten, Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahrens verwendet man genetisch veränderte Pflanzen, die in Samen die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen.

Vorzugsweise wird dies dadurch erreicht, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines samenspezifischen Promotors erfolgt. Beispielsweise werden dazu die 35 vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, wie nachstehend ausführlich beschrieben, in einem Nukleinsäurekonstrukt funktionell verknüpft mit einem samenspezifischen Promotor in die Pflanze eingebracht.

Das Targeting in die Chromoplasten erfolgt durch ein funktionell verknüpftes plastidäres Transitpeptid.

Im folgenden wird exemplarisch die Herstellung genetisch veränderter Pflanzen mit erhöhter oder verursachter Ketolase-Aktivität und erhöhter oder verursachter  $\beta$ -Cyclase-Aktivität beschrieben, wobei die veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

Die Erhöhung weiterer Aktivitäten, wie beispielsweise der Hydroxylase-Aktivität, HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und/oder MinD-Aktivität kann analog unter Verwendung der entsprechenden Effektgene erfolgen.

Die Transformation kann bei den Kombinationen von genetischen Veränderungen einzeln oder durch Mehrfachkonstrukte erfolgen.

Die Herstellung der transgenen Pflanzen erfolgt vorzugsweise durch Transformation der Ausgangspflanzen, mit einem Nukleinsäurekonstrukt, das die vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase und kodierend eine  $\beta$ -Cyclase enthält, die mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten, wobei die Nukleinsäure eine  $\beta$ -Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

Alternativ erfolgt die Herstellung der transgenen Pflanzen vorzugsweise durch Transformation der Ausgangspflanzen, mit zwei Nukleinsäurekonstrukten. Ein Nukleinsäurekonstrukt enthält mindestens eine vorstehend beschriebene Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, die mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft ist, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten. Das zweite Nukleinsäurekonstrukt enthält mindestens eine vorstehend beschriebene Nukleinsäure,



5 kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, die mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten, wobei die Nukleinsäure eine  $\beta$ -Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist..

10 Diese Nukleinsäurekonstrukte, in denen die Effektgene mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten, werden im folgenden auch Expressionskassetten genannt.

Vorzugsweise enthalten die Regulationssignale einen oder mehrere Promotoren, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten.

15 Die Expressionskassetten beinhalten Regulationssignale, also regulative Nukleinsäuresequenzen, welche die Expression der Effektgene in der Wirtszelle steuern. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform umfasst eine Expressionskassette stromaufwärts, d.h. am 5'-Ende der kodierenden Sequenz, einen Promotor und stromabwärts, d.h. am 3'-Ende, ein Polyadenylierungssignal und gegebenenfalls weitere regulatorische Elemente, welche mit der dazwischenliegenden kodierenden Sequenz des Effektgens für  
20 mindestens eines der vorstehend beschriebenen Gene operativ verknüpft sind. Unter einer operativen Verknüpfung versteht man die sequenzielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und ggf. weiterer regulativer Elemente derart, das jedes der regulativen Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden  
25 Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann.

Im folgenden werden beispielhaft die bevorzugten Nukleinsäurekonstrukte, Expressionskassetten und Vektoren für Pflanzen und Verfahren zur Herstellung von transgenen Pflanzen, sowie die transgenen Pflanzen selbst beschrieben.

30 Die zur operativen Verknüpfung bevorzugten, aber nicht darauf beschränkten Sequenzen sind Targeting-Sequenzen zur Gewährleistung der subzellulären Lokalisation im Apoplasten, in der Vakuole, in Plastiden, im Mitochondrium, im Endoplasmatischen Retikulum (ER), im Zellkern, in Ölkörperchen oder anderen Kompartimenten und  
35 Translationsverstärkern wie die 5'-Führungssequenz aus dem Tabak-Mosaik-Virus (Gallie et al., Nucl. Acids Res. 15 (1987), 8693 -8711).

Als Promotor der Expressionskassette ist grundsätzlich jeder Promotor geeignet, der die Expression von Fremdgenen in Pflanzen steuern kann.

40

"Konstitutiver" Promotor meint solche Promotoren, die eine Expression in zahlreichen, bevorzugt allen, Geweben über einen größeren Zeitraum der Pflanzenentwicklung, bevorzugt zu allen Zeitpunkten der Pflanzenentwicklung, gewährleisten.

- 5 Vorzugsweise verwendet man insbesondere einen pflanzlichen Promotor oder einen Promotor, der einem Pflanzenvirus entstammt. Insbesondere bevorzugt ist der Promotor des 35S-Transkriptes des CaMV Blumenkohlmosaikvirus (Franck et al. (1980) Cell 21:285-294; Odell et al. (1985) Nature 313:810-812; Shewmaker et al. (1985) Virology 140:281-288; Gardner et al. (1986) Plant Mol Biol 6:221-228), der 19S CaMV Promotor
- 10 (US 5,352,605; WO 84/02913; Benfey et al. (1989) EMBO J 8:2195-2202), den Triose-Phosphat Translokator (TPT) Promotor aus *Arabidopsis thaliana* Acc.-No. AB006698, Basenpaar 53242 bis 55281; das Gen beginnend ab bp 55282 ist mit "phosphate/triose-phosphate translocator" annotiert, oder den 34S Promotor aus Figwort mosaic virus Acc.-No. X16673, Basenpaar 1 bis 554.
- 15 Ein weiterer geeigneter konstitutiver Promotor ist der pds Promotor (Pecker et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci USA 89: 4962-4966) oder der "Rubisco small subunit (SSU)"-Promotor (US 4,962,028), der LeguminB-Promotor (GenBank Acc.-Nr. X03677), der Promotor der Nopalinsynthase aus *Agrobacterium*, der TR-Doppelpromotor, der OCS (Octopin Synthase) Promotor aus *Agrobacterium*, der Ubiquitin Promotor (Holtorf S et al. (1995) Plant Mol Biol 29:637-649), der Ubiquitin 1 Promotor (Christensen et al. (1992) Plant Mol Biol 18:675-689; Bruce et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:9692-9696), der Smas Promotor, der Cinnamylalkoholdehydrogenase-Promotor (US 5,683,439), die Promotoren der vakuolären ATPase Untereinheiten oder der Promotor eines prolinreichen Proteins aus Weizen (WO 91/13991), der Pnit-Promotor (Y07648.L, Hillebrand et al. (1998), Plant. Mol. Biol. 36, 89-99, Hillebrand et al. (1996), Gene, 170, 197-200) sowie weitere Promotoren von Genen, deren konstitutive Expression in Pflanzen dem Fachmann bekannt ist.
- 20 Die Expressionskassetten können auch einen chemisch induzierbaren Promotor enthalten (Übersichtsartikel: Gatz et al. (1997) Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48:89-108), durch den die Expression der Effektgene in der Pflanze zu einem bestimmten Zeitpunkt gesteuert werden kann. Derartige Promotoren, wie z.B. der PRP1 Promotor (Ward et al. (1993) Plant Mol Biol 22:361-366), ein durch Salicylsäure induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein durch Benzolsulfonamid-induzierbarer Promotor (EP 0 388 186), ein durch Tetrazyklin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J 2:397-404), ein durch Abscisinsäure induzierbarer Promotor (EP 0 335 528) bzw. ein durch Ethanol- oder Cyclohexanon-induzierbarer Promotor (WO 93/21334) können ebenfalls verwendet werden.

- Ferner sind Promotoren bevorzugt, die durch biotischen oder abiotischen Stress induziert werden wie beispielsweise der pathogen-induzierbare Promotor des PRP1-Gens (Ward et al. (1993) *Plant Mol Biol* 22:361-366), der hitzeinduzierbare hsp70- oder hsp80-Promotor aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare alpha-Amylase
- 5 Promotor aus der Kartoffel (WO 96/12814), der licht-induzierbare PPDK Promotor oder der verwundungsinduzierte pinII-Promotor (EP375091).

- Pathogen-induzierbare Promotoren umfassen die von Genen, die infolge eines Pathogenbefalls induziert werden wie beispielsweise Gene von PR-Proteinen, SAR-
- 10 Proteinen, b-1,3-Glucanase, Chitinase usw. (beispielsweise Redolfi et al. (1983) *Neth J Plant Pathol* 89:245-254; Uknes, et al. (1992) *The Plant Cell* 4:645-656; Van Loon (1985) *Plant Mol Biol* 4:111-116; Marineau et al. (1987) *Plant Mol Biol* 9:335-342; Matton et al. (1987) *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2:325-342; Somssich et al. (1986) *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2427-2430; Somssich et al. (1988) *Mol Gen Genet* 2:93-98; Chen et al. (1996) *Plant J* 10:955-966; Zhang and Sing (1994) *Proc Natl Acad Sci USA* 91:2507-2511; Warner, et al. (1993) *Plant J* 3:191-201; Siebertz et al. (1989) *Plant Cell* 1:961-968(1989).
- 15

- Umfasst sind auch verwundungsinduzierbare Promotoren wie der des pinII-Gens (Ryan (1990) *Ann Rev Phytopath* 28:425-449; Duan et al. (1996) *Nat Biotech* 14:494-498), des wun1 und wun2-Gens (US 5,428,148), des win1- und win2-Gens (Stanford et al. (1989) *Mol Gen Genet* 215:200-208), des Systemin-Gens (McGurl et al. (1992) *Science* 225:1570-1573), des WIP1-Gens (Rohmeier et al. (1993) *Plant Mol Biol* 22:783-792; Ekelkamp et al. (1993) *FEBS Letters* 323:73-76), des MPI-Gens (Corderok et al. (1994) *The Plant J* 6(2):141-150) und dergleichen.
- 20
- 25

- Weitere geeignete Promotoren sind beispielsweise fruchtreifung-spezifische Promotoren, wie beispielsweise der fruchtreifung-spezifische Promotor aus Tomate (WO 94/21794, EP 409 625). Entwicklungsabhängige Promotoren schließt zum Teil die gewebespezifischen Promotoren ein, da die Ausbildung einzelner Gewebe naturgemäß entwicklungsabhängig erfolgt.
- 30

- Weiterhin sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, die die Expression in Geweben oder Pflanzenteilen sicherstellen, in denen beispielsweise die Biosynthese von
- 35 Ketocarotinoiden bzw. dessen Vorstufen stattfindet. Bevorzugt sind beispielsweise Promotoren mit Spezifitäten für die Antheren, Ovarien, Petalen, Sepalen, Blüten, Blätter, Stengel, Samen und Wurzeln und Kombinationen hieraus.

- Knollen-, Speicherwurzel- oder Wurzel-spezifische Promotoren sind beispielsweise der
- 40 Patatin-Promotor Klasse I (B33) oder der Promotor des Cathepsin D Inhibitors aus Kar-

toffel.

- Blattspezifische Promotoren sind beispielsweise der Promotor der cytosolischen FBPase aus Kartoffel (WO 97/05900), der SSU Promotor (small subunit) der Rubisco (Ribulose-1,5-bisphosphatcarboxylase) oder der ST-LSI Promotor aus Kartoffel (Stockhaus et al. (1989) EMBO J 8:2445-2451).
- Blütenspezifische Promotoren sind beispielsweise der Phytoen-Synthase Promotor (WO 92/16635) oder der Promotor des P-rr Gens (WO 98/22593), der AP3 Promotor aus *Arabidopsis thaliana*, der CHRC-Promotor (Chromoplast-specific carotenoid-associated protein (CHRC) gene promoter aus *Cucumis sativus* Acc.-No. AF099501, Basenpaar 1 bis 1532), der EPSP\_Synthase Promotor (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene promoter aus *Petunia hybrida*, Acc.-No. M37029, Basenpaar 1 bis 1788), der PDS Promotor (Phytoene desaturase gene promoter aus *Solanum lycopersicum*, Acc.-No. U46919, Basenpaar 1 bis 2078), der DFR-A Promotor (Dihydroflavonol 4-reductase gene A promoter aus *Petunia hybrida*, Acc.-No. X79723, Basenpaar 32 bis 1902) oder der FBP1 Promotor (Floral Binding Protein 1 gene promoter aus *Petunia hybrida*, Acc.-No. L10115, Basenpaar 52 bis 1069).
- Antheren-spezifische Promotoren sind beispielsweise der 5126-Promotor (US 5,689,049, US 5,689,051), der glob-I Promotor oder der g-Zein Promotor.
- Samen-spezifische Promotoren sind beispielsweise der ACP05-Promotor (Acyl-carrier-Protein Gen, WO9218634), die Promotoren AtS1 und AtS3 von *Arabidopsis* (WO 9920775), der LeB4-Promotor von *Vicia faba* (WO 9729200 und US 06403371), der Napin-Promotor von *Brassica napus* (US 5608152; EP 255378; US 5420034), der SBP-Promotor von *Vicia faba* (DE 9903432) oder die Maispromotoren End1 und End2 (WO 0011177).
- Weitere zur Expression in Pflanzen geeignete Promotoren sind beschrieben in Rogers et al. (1987) Meth in Enzymol 153:253-277; Schardl et al. (1987) Gene 61:1-11 und Berger et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:8402-8406).
- Besonders bevorzugt im erfindungsgemäßen Verfahren sind konstitutive, samenspezifische, fruchtspezifische, blütenspezifische und insbesondere blütenblattspezifische Promotoren.
- Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt vorzugsweise durch Fusion eines geeigneten Promotors mit mindestens einem der vorstehend beschriebenen Effektge-

ne, und vorzugsweise einer zwischen Promotor und Nukleinsäure-Sequenz inserierten Nukleinsäure, die für ein plastidenspezifisches Transitpeptid kodiert, sowie einem Polyadenylierungssignal nach gängigen Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience (1987), beschrieben sind.

Die vorzugsweise insertierte Nukleinsäuren, kodierend ein plastidäres Transitpeptid, gewährleisten die Lokalisation in Plastiden und insbesondere in Chromoplasten.

Es können auch Expressionskassetten verwendet werden, deren Nukleinsäure-Sequenz für ein Effektgen-Produkt-Fusionsprotein kodiert, wobei ein Teil des Fusionsproteins ein Transitpeptid ist, das die Translokation des Polypeptides steuert. Bevorzugt sind für die Chromoplasten spezifische Transitpeptide, welche nach Translokation der Effektgene in die Chromoplasten vom Effektgenprodukt-Teil enzymatisch abgespalten werden.

Insbesondere bevorzugt ist das Transitpeptid, das von der plastidären *Nicotiana tabacum* Transketolase oder einem anderen Transitpeptid (z.B. dem Transitpeptid der kleinen Untereinheit der Rubisco (rbcS) oder der Ferredoxin NADP Oxidoreduktase als auch der Isopentenylpyrophosphat Isomerase-2) oder dessen funktionellem Äquivalent abgeleitet ist.

Besonders bevorzugt sind Nukleinsäure-Sequenzen von drei Kassetten des Plastiden-Transitpeptids der plastidären Transketolase aus Tabak in drei Leserastern als KpnI/BamHI Fragmente mit einem ATG-Codon in der NcoI Schnittstelle:

30 pTP09

KpnI\_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTTCTCTCACTCTCTCTCAAGCTATCCTCTCTC  
GTTCTGTCCCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTTCTCAACTTTCCCTTCTTCTCT-  
35 CACTTTTTCCGGCCTTAAATCCAATCCCAATATCACCACCTCCCGCCGCCG-  
TACTCCTTCCCTCCGCCGCCGCCGCCGCGTCGTAAGGTCACCGGC-  
GATTCGTGCCTCAGCTGCAACCGAAACCATAGAGAAACTGAGACTGCGG-  
GATCC\_BamHI

## pTP10

KpnI\_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTTCTCTCACTCTCTCTCAAGCTATCCTCTCTC  
 GTTCTGTCCCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTTCTCAACTTTCCCCTTCTTCTCT-  
 5 CACTTTTTCCGGCCTTAAATCCAATCCCAATATCACCACTCCCGCCGCCG-  
 TACTCCTTCCTCCGCCGCCGCCGCCGCCGTCGTAAGGTCACCGGC-  
 GATTCGTGCCTCAGCTGCAACCGAAACCATAGAGAAAAGTGAAGTGCAGCTG-  
 GATCC\_BamHI

## 10 pTP11

KpnI\_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTTCTCTCACTCTCTCTCAAGCTATCCTCTCTC  
 GTTCTGTCCCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTTCTCAACTTTCCCCTTCTTCTCT-  
 CACTTTTTCCGGCCTTAAATCCAATCCCAATATCACCACTCCCGCCGCCG-  
 15 TACTCCTTCCTCCGCCGCCGCCGCCGCCGTCGTAAGGTCACCGGC-  
 GATTCGTGCCTCAGCTGCAACCGAAACCATAGAGAAAAGTGAAGTGCAGCTG-  
 GATCC\_BamHI

20 Weitere Beispiele für ein plastidäres Transitpeptid sind das Transitpeptid der plastidären Isopentenyl-pyrophosphat Isomerase-2 (IPP-2) aus *Arabidopsis thaliana* und das Transitpeptid der kleinen Untereinheit der Ribulosebisphosphat Carboxylase (rbcS) aus Erbse (Guerineau, F, Woolston, S, Brooks, L, Mullineaux, P (1988) An expression cassette for targeting foreign proteins into the chloroplasts. Nucl. Acids Res. 16: 11380).

25 Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren können synthetisch hergestellt oder natürlich gewonnen sein oder eine Mischung aus synthetischen und natürlichen Nukleinsäure-Bestandteilen enthalten, sowie aus verschiedenen heterologen Genabschnitten verschiedener Organismen bestehen.

30 Bevorzugt sind, wie vorstehend beschrieben, synthetische Nukleotid-Sequenzen mit Kodons, die von Pflanzen bevorzugt werden. Diese von Pflanzen bevorzugten Kodons können aus Kodons mit der höchsten Proteinhäufigkeit bestimmt werden, die in den meisten interessanten Pflanzenspezies exprimiert werden.

35 Bei der Präparation einer Expressionskassette können verschiedene DNA-Fragmente manipuliert werden, um eine Nukleotid-Sequenz zu erhalten, die zweckmäßigerweise in der korrekten Richtung liest und die mit einem korrekten Leseraster ausgestattet ist. Für die Verbindung der DNA-Fragmente miteinander können an die Fragmente Adaptern oder Linker angesetzt werden.

Zweckmäßigerweise können die Promotor- und die Terminator-Regionen in Transkriptionsrichtung mit einem Linker oder Polylinker, der eine oder mehrere Restriktionsstellen für die Insertion dieser Sequenz enthält, versehen werden. In der Regel hat der Linker 1 bis 10, meistens 1 bis 8, vorzugsweise 2 bis 6 Restriktionsstellen. Im allgemeinen hat der Linker innerhalb der regulatorischen Bereiche eine Größe von weniger als 100 bp, häufig weniger als 60 bp, mindestens jedoch 5 bp. Der Promotor kann sowohl nativ bzw. homolog als auch fremdartig bzw. heterolog zur Wirtspflanze sein. Die Expressionskassette beinhaltet vorzugsweise in der 5'-3'-Transkriptionsrichtung den Promotor, eine kodierende Nukleinsäuresequenz oder ein Nukleinsäurekonstrukt und eine Region für die transkriptionale Termination. Verschiedene Terminationsbereiche sind gegeneinander beliebig austauschbar.

Beispiele für einen Terminator sind der 35S-Terminator (Guerineau et al. (1988) Nucl. Acids Res. 16: 11380), der nos Terminator (Depicker A, Stachel S, Dhaese P, Zambryski P, Goodman HM. Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. J Mol Appl Genet. 1982;1(6):561-73) oder der ocs Terminator (Gielen, J, de Beuckeleer, M, Seurinck, J, Debroek, H, de Greve, H, Lemmers, M, van Montagu, M, Schell, J (1984) The complete sequence of the TL-DNA of the *Agrobacterium tumefaciens* plasmid pTiAch5. EMBO J. 3: 835-846).

Ferner können Manipulationen, die passende Restriktionsschnittstellen bereitstellen oder die überflüssige DNA oder Restriktionsschnittstellen entfernen, eingesetzt werden. Wo Insertionen, Deletionen oder Substitutionen wie z.B. Transitionen und Transversionen in Frage kommen, können *in vitro*-Mutagenese, "primer-repair", Restriktion oder Ligation verwendet werden.

Bei geeigneten Manipulationen, wie z.B. Restriktion, "chewing-back" oder Auffüllen von Überhängen für "bluntends", können komplementäre Enden der Fragmente für die Ligation zur Verfügung gestellt werden.

Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind pflanzliche Polyadenylierungssignale, vorzugsweise solche, die im wesentlichen T-DNA-Polyadenylierungssignale aus *Agrobacterium tumefaciens*, insbesondere des Gens 3 der T-DNA (Octopin Synthase) des Ti-Plasmids pTiACH5 entsprechen (Gielen et al., EMBO J. 3 (1984), 835 ff) oder funktionelle Äquivalente.

Die Übertragung von Fremdgenen in das Genom einer Pflanze wird als Transformation bezeichnet.

Dazu können an sich bekannte Methoden zur Transformation und Regeneration von Pflanzen aus Pflanzengeweben oder Pflanzenzellen zur transienten oder stabilen Transformation genutzt werden.

- 5 Geeignete Methoden zur Transformation von Pflanzen sind die Protoplastentransformation durch Polyethylenglykol-induzierte DNA-Aufnahme, das biolistische Verfahren mit der Genkanone – die sogenannte "particle bombardment" Methode, die Elektroporation, die Inkubation trockener Embryonen in DNA-haltiger Lösung, die Mikroinjektion und der, vorstehend beschriebene, durch *Agrobacterium* vermittelte Gentransfer. Die
- 10 genannten Verfahren sind beispielsweise in B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von S.D. Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143 sowie in Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225) beschrieben.
- 15 Vorzugsweise wird das zu exprimierende Konstrukt in einen Vektor kloniert, der geeignet ist, *Agrobacterium tumefaciens* zu transformieren, beispielsweise pBin19 (Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984), 8711) oder besonders bevorzugt pSUN2, pSUN3, pSUN4 oder pSUN5 (WO 02/00900).
- 20 Mit einem Expressionsplasmid transformierte Agrobakterien können in bekannter Weise zur Transformation von Pflanzen verwendet werden, z.B. indem verwundete Blätter oder Blattstücke in einer Agrobakterienlösung gebadet und anschließend in geeigneten Medien kultiviert werden.
- 25 Zur bevorzugten Herstellung von genetisch veränderten Pflanzen, im folgenden auch transgene Pflanzen bezeichnet, wird die fusionierte Expressionskassette in einen Vektor, beispielsweise pBin19 oder insbesondere pSUN5 und pSUN3 kloniert, der geeignet ist, in *Agrobacterium tumefaciens* transformiert zu werden. Mit einem solchen Vektor transformierte Agrobakterien können dann in bekannter Weise zur Transformation
- 30 von Pflanzen, insbesondere von Kulturpflanzen verwendet werden, indem beispielsweise verwundete Blätter oder Blattstücke in einer Agrobakterienlösung gebadet und anschließend in geeigneten Medien kultiviert werden.

- Die Transformation von Pflanzen durch Agrobakterien ist unter anderem bekannt aus
- 35 F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von S.D. Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38. Aus den transformierten Zellen der verwundeten Blätter bzw. Blattstücke können in bekannter Weise transgene Pflanzen regeneriert werden, die ein oder mehrere in die Expressionskassette integrierte Gene enthalten.



Zur Transformation einer Wirtspflanze mit einem oder mehreren erfindungsgemäßen Effektgenen wird eine Expressionskassette als Insertion in einen rekombinanten Vektor eingebaut, dessen Vektor-DNA zusätzliche funktionelle Regulationssignale, beispielsweise Sequenzen für Replikation oder Integration enthält. Geeignete Vektoren sind  
5 unter anderem in "Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology" (CRC Press), Kap. 6/7, S. 71-119 (1993) beschrieben.

Unter Verwendung der oben zitierten Rekombinations- und Klonierungstechniken können die Expressionskassetten in geeignete Vektoren kloniert werden, die ihre Vermehrung; beispielsweise in *E. coli*, ermöglichen. Geeignete Klonierungsvektoren sind u.a.  
10 pJIT117 (Guerineau et al. (1988) Nucl. Acids Res. 16 :11380), pBR332, pUC-Serien, M13mp-Serien und pACYC184. Besonders geeignet sind binäre Vektoren, die sowohl in *E. coli* als auch in Agrobakterien replizieren können.

15 Im folgenden wird exemplarisch die Herstellung erfindungsgemäßer, genetisch veränderter Mikroorganismen mit erhöhter oder verursachter Ketolase-Aktivität und erhöhter oder verursachter  $\beta$ -Cyclase-Aktivität näher beschrieben, wobei die veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder  
20 Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

Die Erhöhung weiterer Aktivitäten, wie beispielsweise der Hydroxylase-Aktivität, HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-  
25 Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und/oder MinD-Aktivität kann analog unter Verwendung der entsprechenden Effektgene erfolgen.  
30

Die vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase,  $\beta$ -Hydroxylase oder  $\beta$ -Cyclase, sowie die Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase,  
35 Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend  
40

leinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein MinD Protein sind vorzugsweise in Expressionskonstrukte  
5 eingebaut, enthaltend unter der genetischen Kontrolle regulativer Nukleinsäuresequenzen eine für ein erfindungsgemäßes Enzym kodierende Nukleinsäuresequenz; sowie Vektoren, umfassend wenigstens eines dieser Expressionskonstrukte.

Vorzugsweise umfassen solche erfindungsgemäßen Konstrukte 5'-stromaufwärts von  
10 der jeweiligen kodierenden Sequenz einen Promotor und 3'-stromabwärts eine Terminatorsequenz sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar jeweils operativ verknüpft mit dem Effektgen. Unter einer "operativen Verknüpfung" versteht man die sequentielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz (Effektgen), Terminator und gegebenenfalls weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes  
15 der regulativen Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann.

Beispiele für operativ verknüpfbare Sequenzen sind Targeting-Sequenzen sowie Translationsverstärker, Enhancer, Polyadenylierungssignale und dergleichen. Weitere  
20 regulative Elemente umfassen selektierbare Marker, Amplifikationssignale, Replikationsursprünge und dergleichen.

Zusätzlich zu den artifiziellen Regulationssequenzen kann die natürliche Regulationssequenz vor dem eigentlichen Effektgen noch vorhanden sein. Durch genetische Veränderung kann diese natürliche Regulation gegebenenfalls ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht oder erniedrigt werden. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor das Strukturgen insertiert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Statt dessen wird die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass  
25 keine Regulation mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert oder verringert wird. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Beispiele für brauchbare Promotoren in Mikroorganismen sind: cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-, lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, lambda-PR- oder im  
35 lambda-PL-Promotor, die vorteilhafterweise in gram-negativen Bakterien Anwendung finden; sowie die gram-positiven Promotoren amy und SPO2 oder die Hefepromotoren ADC1, MFa, AC, P-60, CYC1, GAPDH. Besonders bevorzugt ist die Verwendung induzierbarer Promotoren, wie z.B. licht- und insbesondere temperaturinduzierbarer

Promotoren, wie der P<sub>7</sub>P<sub>7</sub>-Promotor.

Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft verwendet werden.

Die genannten regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen und die Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen oder erniedrigen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt durch Fusion eines geeigneten Promotors mit den vorstehend beschriebenen Nukleinsäuresequenzen, kodierend eine Ketolase,  $\beta$ -Hydroxylase,  $\beta$ -Cyclase, HMG-CoA-Reduktase, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase, Geranyl-Diphosphat-Synthase, Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Phytoen-Synthase, Phytoen-Desaturase, Zeta-Carotin-Desaturase, crtISO Protein, FtsZ Protein und/oder ein MinD Protein sowie einem Terminator- oder Polyadenylierungssignal. Dazu verwendet man gängige Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) beschrieben sind.

Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor insertiert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fachmann wohl bekannt und können beispielsweise aus "Cloning Vectors" (Pouwels P. H. et al., Hrsg, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985) entnommen werden. Unter Vektoren sind außer Plasmiden auch alle anderen dem Fachmann bekannt-

te Vektoren, wie beispielsweise Phagen, Viren, wie SV40, CMV, Baculovirus und Adenovirus, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, und lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

5

Als Beispiele für geeignete Expressionsvektoren können genannt werden:

10 Übliche Fusionsexpressionsvektoren, wie pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B. und Johnson, K.S. (1988) *Gene* 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT 5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird.

15 Nicht-Fusionsprotein-Expressionsvektoren wie pTrc (Amann et al., (1988) *Gene* 69:301-315) und pET 11d (Studier et al. *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60-89) oder pBluescript und pUC-Vektoren.

20 Hefe-Expressionsvektor zur Expression in der Hefe *S. cerevisiae*, wie pYepSec1 (Baldari et al., (1987) *Embo J.* 6:229-234), pMFa (Kurjan und Herskowitz (1982) *Cell* 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) *Gene* 54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA).

25 Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich zur Verwendung in anderen Pilzen, wie filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in: van den Hondel, C.A.M.J.J. & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: *Applied Molecular Genetics of Fungi*, J.F. Peberdy et al., Hrsg., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge.

30 Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (bspw. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al., (1983) *Mol. Cell Biol.* 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) *Virology* 170:31-39).

35 Weitere geeignete Expressionssysteme für prokaryontische und eukaryotische Zellen sind in Kapitel 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F. und Maniatis, T., *Molecular cloning: A Laboratory Manual*, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 beschrieben.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Expressionskonstrukte bzw. Vektoren sind genetisch veränderte Mikroorganismen herstellbar, welche beispielsweise mit wenigstens einem erfindungsgemäßen Vektor transformiert sind.

- 5    Vorteilhafterweise werden die oben beschriebenen erfindungsgemäßen rekombinanten Konstrukte in ein geeignetes Wirtssystem eingebracht und exprimiert. Dabei werden vorzugsweise dem Fachmann bekannte geläufige Klonierungs- und Transfektionsmethoden, wie beispielsweise Co-Präzipitation, Protoplastenfusion, Elektroporation, retrovirale Transfektion und dergleichen, verwendet, um die genannten Nukleinsäuren
- 10   im jeweiligen Expressionssystem zur Expression zu bringen. Geeignete Systeme werden beispielsweise in Current Protocols in Molecular Biology, F. Ausubel et al., Hrsg., Wiley Interscience, New York 1997, beschrieben.

- 15   Die Selektion erfolgreich transformierter Organismen kann durch Markergene erfolgen, die ebenfalls im Vektor oder in der Expressionskassette enthalten sind. Beispiele für solche Markergene sind Gene für Antibiotikaresistenz und für Enzyme, die eine farbbegebende Reaktion katalysieren, die ein Anfärben der transformierten Zelle bewirkt. Diese können dann mittels automatischer Zellsortierung selektiert werden.

- 20   Erfolgreich mit einem Vektor transformierte Mikroorganismen, die ein entsprechendes Antibiotikaresistenzgen (z.B. G418 oder Hygromycin) tragen, lassen sich durch entsprechende Antibiotika-enthaltende Medien oder Nährböden selektieren. Markerproteine, die an der Zelloberfläche präsentiert werden, können zur Selektion mittels Affinitätschromatographie genutzt werden.

- 25   Die Kombination aus den Wirtsorganismen und den zu den Organismen passenden Vektoren, wie Plasmide, Viren oder Phagen, wie beispielsweise Plasmide mit dem RNA-Polymerase/Promotor-System, die Phagen 8 oder andere temperente Phagen oder Transposons und/oder weiteren vorteilhaften regulatorischen Sequenzen bildet
- 30   ein Expressionssystem.

Die Erfindung betrifft ferner die genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen, wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer Ketolase

- 35   A   für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und

B   für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht,

und wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer  $\beta$ -Cyclase

C für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine  $\beta$ -Cyclase -Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und

5

D für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine  $\beta$ -Cyclase -Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht

10 und die nach C erhöhte oder nach D verursachte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

15 Wie vorstehend ausgeführt erfolgt die Erhöhung (gemäß A) oder Verursachung (gemäß B) der Ketolase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp vorzugsweise durch die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

20 In einer weiter bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase durch Einbringen von Nukleinsäuren, die Ketolasen kodieren, in den Organismus.

25 In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres Ketolase-Gen vor. In dieser Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, auf:

30 Dazu kann prinzipiell jedes Ketolase-Gen, also jede Nukleinsäuren die eine Ketolase kodiert verwendet werden.

Bevorzugte Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase sind vorstehend bei den erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben.

35 Vorzugsweise erfolgt die Erhöhung oder Verursachung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität, wie vorstehend beschrieben, durch Erhöhung der Genexpression gegenüber dem Wildtyp von Nukleinsäuren, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf

Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

- In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, durch Einbringen in den Organismus von
- 5 mindestens einer Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
- 10 In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres  $\beta$ -Cyclase-Gen vor. In dieser Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, auf.
- 15

- Dazu kann prinzipiell jedes  $\beta$ -Cyclase-Gen, also jede Nukleinsäure, die eine  $\beta$ -Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, verwendet werden.
- 20

Bevorzugte  $\beta$ -Cyclase-Gene sind vorstehend beschrieben.

- 25 Besonders bevorzugte, genetisch veränderte Organismen weisen, wie vorstehend erwähnt, zusätzlich eine erhöhte oder verursachte Hydroxylase-Aktivität gegenüber dem Wildtyporganismus auf. Weiter bevorzugte Ausführungsformen sind vorstehend im erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben.
- 30 Weitere, besonders bevorzugte, genetisch veränderte nicht-humane Organismen weisen, wie vorstehend erwähnt, zusätzlich gegenüber dem Wildtyp mindestens eine weitere erhöhte Aktivität, ausgewählt aus der Gruppe HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-
- 35 Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und MinD-Aktivität auf. Weiter bevorzugte Ausführungsformen sind vorstehend im erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben.
- 40

Unter Organismen werden erfindungsgemäß vorzugsweise Organismen verstanden, die als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen natürlicherweise oder durch genetische Komplementierung und/oder Umregulierung der Stoffwechselwege in der Lage sind,

- 5 Carotinoide, insbesondere  $\beta$ -Carotin und/oder Zeaxanthin und/oder Neoxanthin und/oder Violaxanthin und/oder Lutein herzustellen.

- Weiter bevorzugte Organismen weisen als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen bereits eine Hydroxylase-Aktivität auf und sind somit als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen in  
10 der Lage, Zeaxanthin herzustellen.

Bevorzugte Organismen sind Pflanzen oder Mikroorganismen, wie beispielsweise Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze.

- 15 Als Bakterien können sowohl Bakterien verwendet werden, die aufgrund des Einbringens von Genen der Carotinoidbiosynthese eines Carotinoid-produzierenden Organismus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren, wie beispielsweise Bakterien der Gattung *Escherichia*, die beispielsweise crt-Gene aus *Erwinia* enthalten, als auch Bakterien, die von sich aus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren wie beispielsweise Bakterien der Gattung *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*,  
20 *Paracoccus*, *Nostoc* oder Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*.

- Bevorzugte Bakterien sind *Escherichia coli*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia uredovora*, *Agrobacterium aurantiacum*, *Alcaligenes* sp. PC-1, *Flavobacterium* sp. strain R1534,  
25 das Cyanobakterium *Synechocystis* sp. PCC6803, *Paracoccus marcusii* oder *Paracoccus carotinifaciens*.

- Bevorzugte Hefen sind *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia* oder *Phaffia*. Besonders bevorzugte Hefen sind *Xanthophyllomyces dendrorhous* oder *Phaffia rhodozyma*.  
30

- Bevorzugte Pilze sind *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, insbesondere *Blakeslea trispora*, *Phycomyces*, *Fusarium* oder weitere in Indian Chem. Engr. Section B. Vol. 37, No. 1, 2 (1995) auf Seite 15, Tabelle 6 beschriebene Pilze.  
35

Bevorzugte Algen sind Grünalgen, wie beispielsweise Algen der Gattung *Haematococcus*, *Phaedactylum tricornatum*, *Volvox* oder *Dunaliella*. Besonders bevorzugte Algen sind *Haematococcus puvialis* oder *Dunaliella bardawil*.



Weitere brauchbare Mikroorganismen und deren Herstellung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens sind beispielsweise aus der DE-A-199 16 140 bekannt, worauf hiermit Bezug genommen wird.

- 5 Besonders bevorzugte Pflanzen sind Pflanzen ausgewählt aus den Familien Amaryllidaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Begoniaceae, Berberidaceae, Brassicaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Geraniaceae, Graminae, Iliaceae, Labiatae, Lamiaceae, Leguminosae, Liliaceae, Linaceae, Lobeliaceae, Malvaceae, Oleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae, Umbelliferae, Verbanaceae, Vitaceae und Violaceae.
- 10
- 15 Ganz besonders bevorzugte Pflanzen sind ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Arnica*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*, *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcubita*, *Cytisus*, *Delonia*, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschscholtzia*, *Forsythia*, *Fremontia*, *Gazania*, *Gelsemium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Grevillea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hisbiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*, *Hypochoeris*, *Impatiens*, *Iris*, *Jacaranda*, *Kerria*, *Laburnum*, *Lathyrus*, *Leontodon*, *Lilium*, *Linum*, *Lotus*, *Lycopersicon*, *Lysimachia*, *Maratia*, *Medicago*, *Mimulus*, *Narcissus*, *Oenothera*, *Osmanthus*, *Petunia*, *Photinia*, *Physalis*, *Phyteuma*, *Potentilla*, *Pyracantha*, *Ranunculus*, *Rhododendron*, *Rosa*, *Rudbeckia*, *Senecio*, *Silene*, *Silphium*, *Sinapsis*, *Sorbus*, *Spartium*, *Tecoma*, *Torenia*, *Tragopogon*, *Trollius*, *Tropaeolum*, *Tulipa*, *Tussilago*, *Ulex*, *Viola* oder *Zinnia*, besonders bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Lycopersicon*, *Rosa*, *Calendula*, *Physalis*, *Medicago*, *Helianthus*, *Chrysanthemum*, *Aster*, *Tulipa*, *Narcissus*, *Petunia*, *Geranium*, *Tropaeolum* oder *Adonis*.
- 20
- 25
- 30

- Ganz besonders bevorzugte genetisch veränderte Pflanzen sind ausgewählt aus den Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Adonis*, *Lycopersicon*, *Rosa*, *Calendula*, *Physalis*, *Medicago*, *Helianthus*, *Chrysanthemum*, *Aster*, *Tulipa*, *Narcissus*, *Petunia*, *Geranium* oder *Tropaeolum*, wobei die genetisch veränderte Pflanze mindestens eine transgene Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, enthält.
- 35

Die transgenen Pflanzen, deren Vermehrungsgut, sowie deren Pflanzenzellen, -gewebe oder -teile, insbesondere deren Früchte, Samen, Blüten und Blütenblätter

sind ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Die genetisch veränderten Pflanzen können, wie vorstehend beschrieben, zur Herstellung von Ketocarotinoiden, insbesondere Astaxanthin verwendet werden.

5

Von Menschen und Tieren verzehrbare erfindungsgemäße, genetisch veränderte Organismen, insbesondere Pflanzen oder Pflanzenteile, wie insbesondere Blütenblätter mit erhöhtem Gehalt an Ketocarotinoiden, insbesondere Astaxanthin können auch beispielsweise direkt oder nach an sich bekannter Prozessierung als Nahrungsmittel oder

10

Futtermittel oder als Futter- und Nahrungsergänzungsmittel verwendet werden.

Ferner können die genetisch veränderten Organismen zur Herstellung von Ketocarotinoid-haltigen Extrakten der Organismen und/oder zur Herstellung von Futter- und Nahrungsergänzungsmitteln verwendet werden.

15

Die genetisch veränderten Organismen weisen im Vergleich zum Wildtyp einen erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden auf.

Unter einem erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden wird in der Regel ein erhöhter Gehalt an Gesamt-Ketocarotinoid verstanden.

20

Unter einem erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden wird aber auch insbesondere ein veränderter Gehalt der bevorzugten Ketocarotinoide verstanden, ohne dass zwangsläufig der Gesamt-Carotinoidgehalt erhöht sein muss.

25

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform weisen die erfindungsgemäßen, genetisch veränderten Pflanzen im Vergleich zum Wildtyp einen erhöhten Gehalt an Astaxanthin auf.

30

Unter einem erhöhten Gehalt wird in diesem Fall auch ein verursachter Gehalt an Ketocarotinoiden, bzw. Astaxanthin verstanden.

Die Erfindung wird durch die nun folgenden Beispiele erläutert, ist aber nicht auf diese beschränkt:

35

Allgemeine Experimentelle Bedingungen:  
Sequenzanalyse rekombinanter DNA

Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgte mit einem Laserfluoreszenz-DNA-Sequenzierer der Firma Licor (Vertrieb durch MWG Biotech, Ebersbach) nach der

40

Methode von Sanger (Sanger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74 (1977), 5463-5467).

Beispiel 1:

Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NOST-Ketolase aus

5 *Nostoc sp. PCC 7120* codiert

Die DNA, die für die NOST-Ketolase aus *Nostoc sp. PCC 7120* kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc sp. PCC 7120* (Stamm der "Pasteur Culture Collection of Cyanobacterium") amplifiziert.

10

Für die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nostoc sp. PCC 7120*, die 1 Woche mit Dauerlicht und konstantem Schütteln (150 rpm) at 25°C in BG 11-Medium (1.5 g/l NaNO<sub>3</sub>, 0.04 g/l K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, 0.075 g/l MgSO<sub>4</sub>·xH<sub>2</sub>O, 0.036 g/l CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.006 g/l citric acid, 0.006 g/l Ferric ammonium citrate, 0.001 g/l EDTA disodium magnesium, 0.04 g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1ml trace metal mix „A5+Co“ (2.86 g/l H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 1.81 g/l MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.222 g/l ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.39 g/l NaMoO<sub>4</sub>·xH<sub>2</sub>O, 0.079 g/l CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.0494 g/l Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O)) gewachsen war, wurden die Zellen durch Zentrifugation geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert.

20

Protokoll für DNA Isolation aus *Nostoc PCC7120*:

Aus einer 10 ml Flüssigkultur wurden die Bakterienzellen durch 10minütige Zentrifugation bei 8 000 rpm pelletiert. Anschließend wurden die Bakterienzellen in flüssigem Stickstoff mit einem Mörser zerstoßen und gemahlen. Das Zellmaterial wurde in 1 ml 10mM Tris HCl (pH 7.5) resuspendiert und in ein Eppendorf Reaktionsgefäß (2ml Volumen) überführt. Nach Zugabe von 100 µl Proteinase K (Konzentration: 20 mg/ml) wurde die Zellsuspension für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Suspension mit 500 µl Phenol extrahiert. Nach 5minütiger Zentrifugation bei 13 000 upm wurde die obere, wässrige Phase in ein neues 2 ml-Eppendorf Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion mit Phenol wurde 3mal wiederholt. Die DNA wurde durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M Natriumacetat (pH 5.2) und 0.6 Volumen Isopropanol gefällt und anschließend mit 70% Ethanol gewaschen. Das DNA-Pellet wurde bei Raumtemperatur getrocknet, in 25 µl Wasser aufgenommen und unter Erhitzung auf 65°C gelöst.

35

Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc PCC 7120*, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc sp. PCC 7120* unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NOSTF, SEQ ID No. 79) und eines antisense-

spezifischen Primers (NOSTG SEQ ID No. 80) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

- 5 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:
- 1 µl einer *Nostoc sp. PCC 7120* DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
  - 10 - 0.25 mM dNTPs
  - 0.2 mM NOSTF (SEQ ID No. 79)
  - 0.2 mM NOSTG (SEQ ID No. 80)
  - 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
  - 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
  - 15 - 25.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 1X 94°C 2 Minuten
- 20 35X 94°C 1 Minute
- 55°C 1 Minuten
- 72°C 3 Minuten
- 1X 72°C 10 Minuten

- 25 Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 79 und SEQ ID No. 80 resultierte in einem 805 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 81). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-T (Promega) kloniert und der Klon pNOSTF-G erhalten.

- 30 Sequenzierung des Klons pNOSTF-G mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 88,886-89,662 des Datenbankeintrages AP003592 identisch ist. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im
- 35 verwendeten *Nostoc sp. PCC 7120*.

- Dieser Klon pNOSTF-G wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117 (Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380) verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 799 Bp SphI-Fragmentes aus pNOSTF-G und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJIT117. Der Klon, der die Ketolase von *Nostoc*
- 40

*sp. PCC 7120* in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem *rbcS* Transitpeptid enthält, heisst pJNOST.

Beispiel 2:

- 5 Konstruktion des Plasmides pMCL-CrtYIBZ/idi/gps für die Synthese von Zeaxanthin in *E. coli*

Die Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ/idi/gps erfolgte in drei Schritten über die Zwischenstufen pMCL-CrtYIBZ und pMCL-CrtYIBZ/idi. Als Vektor wurde das mit high-copy-number Vektoren kompatible Plasmid pMCL200 verwendet (Nakano, Y., Yoshida, Y., Yamashita, Y. und Koga, T.; Construction of a series of pACYC-derived plasmid vectors; Gene 162 (1995), 157-158).

Beispiel 2.1.: Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ

- 15 Die Biosynthesegene *crtY*, *crtB*, *crtI* und *crtZ* entstammen dem Bakterium *Erwinia uredovora* und wurden mittels PCR amplifiziert. Genomische DNA von *Erwinia uredovora* (DSM 30080) wurde von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig) innerhalb eines Service-Dienstes präpariert. Die PCR-Reaktion wurde entsprechend den Angaben des Herstellers durchgeführt (Roche, Long
- 20 Template PCR: Procedure for amplification of 5-20 kb targets with the expand long template PCR system). Die PCR-Bedingungen für die Amplifikation des Biosynthesecusters von *Erwinia uredovora* waren die folgenden:

Master Mix 1:

- 25
- 1.75  $\mu$ l dNTPs (Endkonzentration 350  $\mu$ M)
  - 0.3  $\mu$ M Primer Crt1 (SEQ ID No. 82)
  - 0.3  $\mu$ M Primer Crt2 (SEQ ID No. 83)
  - 250 – 500 ng genomische DNA von DSM 30080
- 30 Aq. Dest. bis zu einem Gesamtvolumen von 50  $\mu$ l

Master Mix 2:

- 35
- 5  $\mu$ l 10x PCR Puffer 1 (Endkonzentration 1x, mit 1.75 mM Mg<sup>2+</sup>)
  - 10x PCR Puffer 2 (Endkonzentration 1x, mit 2.25 mM Mg<sup>2+</sup>)
  - 10x PCR Puffer 3 (Endkonzentration 1x, mit 2.25 mM Mg<sup>2+</sup>)
  - 0.75  $\mu$ l Expand Long Template Enzyme Mix (Endkonzentration 2.6 Units)
- Aq. Dest. bis zu einem Gesamtvolumen von 50  $\mu$ l

Die beiden Ansätze "Master Mix 1" und "Master Mix 2" wurden zusammenpipetiert. Die PCR wurde in einem Gesamtvolumen von 50 µl unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 5 1X94°C 2 Minuten
- 30X94°C 30 Sekunden
- 58°C 1 Minute
- 68°C 4 Minuten
- 1X72°C 10 Minuten

10

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 82 und SEQ ID No. 83 resultierte in einem Fragment (SEQ ID NO: 84), das für die Gene *CrtY* (Protein: SEQ ID NO: 85), *CrtI* (Protein: SEQ ID NO: 86), *crtB* (Protein: SEQ ID NO: 87) und *CrtZ* (*idiA*) kodiert. Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-

- 15 Klonierungsvektor pCR2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pCR2.1-CrtYIBZ erhalten.

Das Plasmid pCR2.1-CrtYIBZ wurde Sall und HindIII geschnitten, das resultierende Sall/HindIII-Fragment isoliert und durch Ligierung in den Sall/HindIII geschnittenen Vektor pMCL200 transferiert. Das in pMCL 200 klonierte Sall/HindIII Fragment aus

20 pCR2.1-CrtYIBZ ist 4624 Bp lang, kodiert für die Gene *CrtY*, *CrtI*, *crtB* und *CrtZ* und entspricht der Sequenz von Position 2295 bis 6918 in D90087 (SEQ ID No. 84). Das Gen *CrtZ* wird entgegen der Leserichtung der Gene *CrtY*, *CrtI* und *CrtB* mittels seines endogenen Promotors transkribiert. Der resultierende Klon heisst pMCL-CrtYIBZ.

- 25 Beispiel 2.2.: Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ/*idi*

Das Gen *idi* (Isopentenylidiphosphat-Isomerase; IPP-Isomerase) wurde aus *E. coli* mittels PCR amplifiziert. Die Nukleinsäure, kodierend das gesamte *idi* Gen mit *idi*-Promotor und Ribosomenbindestelle, wurde aus *E. coli* mittels "polymerase chain reaction" (PCR) unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (5'-*idi* SEQ ID No. 88)

30 und eines antisense-spezifischen Primers (3'-*idi* SEQ ID No. 89) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem

35 enthalten war:

- 1 µl einer *E. coli* TOP10- Suspension
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM 5'-*idi* (SEQ ID No. 88)
- 40 - 0.2 mM 3'-*idi* (SEQ ID No. 89)

- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
- 28.8 ul Aq. Dest.

5 Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

1X94°C 2 Minuten

20X 94°C 1 Minute

62 °C 1 Minute

10 72°C 1 Minute

1X72°C 10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 88 und SEQ ID No. 89 resultierte in einem 679 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 90). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pCR2.1-idi erhalten.

Sequenzierung des Klons pCR2.1-idi bestätigte eine Sequenz, die sich nicht von der publizierten Sequenz AE000372 in Position 8774 bis Position 9440 unterscheidet. Diese Region umfaßt die Promotor-Region, die potentielle Ribosomenbindestelle und den gesamten "open reading frame" für die IPP-Isomerase. Das in pCR2.1-idi klonierte Fragment hat durch das Einfügen einer XhoI-Schnittstelle am 5'-Ende und einer Sall-Schnittstelle am 3'-Ende des *idi*-Gens eine Gesamtlänge von 679 Bp.

Dieser Klon wurde daher für die Klonierung des *idi*-Gens in den Vektor pMCL-CrtYIBZ verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des XhoI/Sall-Fragmentes aus pCR2.1-idi und Ligierung in den XhoI/Sall geschnittenen Vektor pMCL-CrtYIBZ. Der resultierende Klon heisst pMCL-CrtYIBZ/*idi*.

30 Beispiel 2.3.: Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ/*idi*/*gps*

Das Gen *gps* (Geranylgeranylpyrophosphat-Synthase; ; GGPP-Synthase) wurde aus *Archaeoglobus fulgidus* mittels PCR amplifiziert. Die Nukleinsäure, kodierend *gps* aus *Archaeoglobus fulgidus*, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (5'-*gps* SEQ ID No. 92) und eines anti-sense-spezifischen Primers (3'-*gps* SEQ ID No. 93) amplifiziert.

Die DNA von *Archaeoglobus fulgidus* wurde von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig) innerhalb eines Service-Dienstes präpariert. Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein GGPP-Synthase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 5
- 1 µl einer *Archaeoglobus fulgidus*-DNA
  - 0.25 mM dNTPs
  - 0.2 mM 5'-gps (SEQ ID No. 92)
  - 0.2 mM 3'-gps (SEQ ID No. 93)
  - 10 - 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
  - 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
  - 28.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 15
- 1X94°C 2 Minuten
  - 20X94°C 1 Minute
  - 56°C 1 Minute
  - 72°C 1 Minute
  - 20 1X72°C 10 Minuten

- Das mittels PCR und den Primern SEQ ID No. 92 und SEQ ID No. 93 amplifizierte DNA-Fragment wurde mit an sich bekannten Methoden aus dem Agarosegel eluiert und mit den Restriktionsenzymen NcoI und HindIII geschnitten. Daraus resultiert ein
- 25 962 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 94). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das NcoI/HindIII geschnittene Amplifikat in den Vektor pCB97-30 kloniert und der Klon pCB-gps erhalten.

- 30 Sequenzierung des Klons pCB-gps bestätigte eine Sequenz für die GGPP-Synthase aus *A. fulgidus*, die sich von der publizierten Sequenz AF120272 in einem Nukleotid unterscheidet. Durch das Einfügen einer NcoI-Schnittstelle im *gps*-Gen wurde das zweite Kodon der GGPP-Synthase verändert. In der publizierten Sequenz AF120272 kodiert CTG (Position 4-6) für Leucin. Durch die Amplifikation mit den beiden Primern
- 35 SEQ ID No. 92 und SEQ ID No. 93 wurde dieses zweite Kodon in GTG verändert, welches für Valin kodiert.

- Der Klon pCB-gps wurde daher für die Klonierung des *gps*-Gens in den Vektor pMCL-CrtYIBZ/idi verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des KpnI/XhoI-Fragmentes aus pCB-gps und Ligierung in den KpnI und XhoI geschnittenen Vektor
- 40



pMCL-CrtYIBZ/idi. Das klonierte KpnI/XhoI-Fragment (SEQ ID No. 94) trägt den Prm16-Promotor zusammen mit einer minimalen 5'-UTR-Sequenz von *rbcl*, den ersten 6 Kodons von *rbcl*, die die GGPP-Synthase N-terminal verlängern, und 3' vom *gps*-Gen die *psbA*-Sequenz. Der N-Terminus der GGPP-Synthase hat somit anstelle der natürlichen Aminosäure-Abfolge mit Met-Leu-Lys-Glu (Aminosäure 1 bis 4 aus AF120272) die veränderte Aminosäure-Abfolge Met-Thr-Pro-Gln-Thr-Ala-Met-Val-Lys-Glu. Daraus resultiert, dass die rekombinante GGPP-Synthase, beginnend mit Lys in Position 3 (in AF120272) identisch ist und keine weiteren Änderungen in der Aminosäuresequenz aufweist. Die *rbcl*- und *psbA*-Sequenzen wurden gemäß einer Referenz nach Eibl et al. (Plant J. 19. (1999), 1-13) verwendet. Der resultierende Klon heisst pMCL-CrtYIBZ/idi/*gps*.

### Beispiel 3:

#### Biotransformation von Zeaxanthin in rekombinanten *E. coli*-Stämmen

Zur Zeaxanthin-Biotransformation wurden rekombinante *E. coli*-Stämme hergestellt, welche durch heterologe Komplementation zur Zeaxanthin-Produktion befähigt sind. Stämme von *E. coli* TOP10 wurden als Wirtszellen für die Komplementations-Experimente mit den Plasmiden pNOSTF-G und pMCL-CrtYIBZ/idi/*gps* verwendet.

Um *E. coli*-Stämme herzustellen, die die Synthese von Zeaxanthin in hoher Konzentration ermöglichen, wurde das Plasmid pMCL-CrtYIBZ/idi/*gps* konstruiert. Das Plasmid trägt die Bioynthesegene *crtY*, *crtB*, *crtI* und *crtY* von *Erwinia uredovora*, das Gen *gps* (für Geranylgeranylpyrophosphat-Synthase) aus *Archaeoglobus fulgidus* und das Gen *idi* (Isopentenylidiphosphat-Isomerase) aus *E. coli*. Mit diesem Konstrukt wurden limitierende Schritte für eine hohe Akkumulation von Carotinoiden und deren biosynthetischen Vorstufen beseitigt. Dies wurde zuvor von Wang et al. in ähnlicher Weise mit mehreren Plasmiden beschrieben (Wang, C.-W., Oh, M.-K. und Liao, J.C.; Engineered isoprenoid pathway enhances astaxanthin production in Escherichia coli, Biotechnology and Bioengineering 62 (1999), 235-241).

Kulturen von *E. coli* TOP10 wurden in an sich bekannter Weise mit den beiden Plasmiden pNOSTF-G und pMCL-CrtYIBZ/idi/*gps* transformiert und in LB-Medium bei 30°C bzw. 37°C über Nacht kultiviert. Ampicillin (50 µg/ml), Chloramphenicol (50 µg/ml) und Isopropyl-β-thiogalactosid (1 mmol) wurden in an sich üblicher Weise ebenfalls über Nacht zugegeben.

Zur Isolierung der Carotinoide aus den rekombinanten Stämmen wurden die Zellen mit Aceton extrahiert, das organische Lösungsmittel zur Trockne eingedampft und die Ca-

rotinoide mittels HPLC über eine C30-Säule aufgetrennt. Folgende Verfahrensbedingungen wurden eingestellt.

Trennsäule: ProntoSil C30-Säule, 250 x 4,6 mm, (Bischoff, Leonberg)

5 Flussrate: 1.0 ml/min

Eluenten: Laufmittel A - 100% Methanol

Laufmittel B - 80% Methanol, 0.2% Ammoniumacetat

Laufmittel C - 100% t-Butyl-methylether

10 Gradientprofil:

Zeit	Flussrate	% Laufmittel A	% Laufmittel B	% Laufmittel C
1.00	1.0	95.0	5.0	0
1.05	1.0	80.0	5.0	15.0
14.00	1.0	42.0	5.0	53.0
14.05	1.0	95.0	5.0	0
17.00	1.0	95.0	5.0	0
18.00	1.0	95.0	5.0	0

Detektion: 300 - 500 nm

15 Die Spektren wurden direkt aus den Elutionspeaks unter Verwendung eines Photodiodenarraydetektors bestimmt. Die isolierten Substanzen wurden über ihre Absorptionsspektren und ihre Retentionszeiten im Vergleich zu Standardproben identifiziert.

20

#### Beispiel 4

Analog zu den vorhergehenden Beispielen wurde ein *E.coli*-Stamm hergestellt, der eine Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille exprimiert. Dazu wurde  
 25 die cDNA, die für die gesamte Primärsequenz der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille kodiert amplifiziert und gemäß Beispiel 1 in den gleichen Expressionsvektor kloniert.

Die cDNA, die für die Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* kodiert, wurde mittels  
 30 PCR aus einer *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80 der "Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen") Suspensionskultur amplifiziert. Für die Präparation von Total-RNA aus einer Suspensionskultur von *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80), die 2 Wochen mit indirektem Tageslicht bei Raumtemperatur in *Haematococ-*

cus- Medium (1.2 g/l Natriumacetat, 2 g/l Hefeextrakt, 0.2 g/l  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.02  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ; pH 6.8; nach Autoklavieren Zugabe von 400 mg/l L-Asparagin, 10 mg/l  $FeSO_4 \cdot H_2O$ ) gewachsen war, wurden die Zellen geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert. Anschließend wurden 100 mg der gefrorenen, pulverisierten Algenzellen in ein Reaktionsgefäß überführt und in 0.8 ml Trizol-Puffer (Life Technologies) aufgenommen. Die Suspension wurde mit 0.2 ml Chloroform extrahiert. Nach 15 minütiger Zentrifugation bei 12 000 g wurde der wässrige Überstand abgenommen und in ein neues Reaktionsgefäß überführt und mit einem Volumen Ethanol extrahiert. Die RNA wurde mit einem Volumen Isopropanol gefällt, mit 75% Ethanol gewaschen und das Pellet in DEPC Wasser (über Nacht Inkubation von Wasser mit 1/1000 Volumen Diethylpyrocarbonat bei Raumtemperatur, anschließend autoklaviert) gelöst. Die RNA-Konzentration wurde photometrisch bestimmt.

Für die cDNA-Synthese wurden 2.5 µg Gesamt-RNA für 10 min bei 60°C denaturiert, für 2 min auf Eis abgekühlt und mittels eines cDNA-Kits (Ready-to-go-you-prime-beads, Pharmacia Biotech) nach Herstellerangaben unter Verwendung eines antisense spezifischen Primers PR1 (gcaagctcga cagctacaaa cc) in cDNA umgeschrieben.

Die Nukleinsäure codierend eine Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80) wurde mittels polymerase chain reaction (PCR) aus *Haematococcus pluvialis* unter Verwendung eines sense spezifischen Primers PR2 (gaagcatgca gctagcagcg acag) und eines antisense spezifischen Primers PR1 amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der cDNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz codiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 4 µl einer *Haematococcus pluvialis* cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM PR1
- 0.2 mM PR2
- 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 1X94°C 2 Minuten

35X94°C 1 Minute

53°C 2 Minuten

72°C 3 Minuten

1X72°C 10 Minuten

5

Die PCR-Amplifikation mit PR1 und PR2 resultierte in einem 1155 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz codiert:

	gaagcatgca	gctagcagcg	acagtaatgt	tggagcagct	taccggaagc	gctgaggcac	60
10	tcaaggagaa	ggagaaggag	gttgacaggca	gctctgacgt	gttgcgtaga	tgggcgaccc	120
	agtactcgct	tccgtcagag	gagtcagacg	cggcccgcgc	gggactgaag	aatgcctaca	180
	agccaccacc	ttccgacaca	aagggcatca	caatggcgct	agctgtcatc	ggctcctggg	240
	ccgcagtgtt	cctccacgcc	atttttcaaa	tcaagcttcc	gacctccttg	gaccagctgc	300
	actggctgcc	cgtgtcagat	gccacagctc	agctggttag	cggcagcagc	agcctgctgc	360
15	acatcgctcg	agtattcttt	gtcctggagt	tcctgtacac	aggccttttt	atcaccacgc	420
	atgatgctat	gcatggcacc	atcgccatga	gaaacaggca	gcttaatgac	ttcttgggca	480
	gagtatgcat	ctccttgtag	gcctgggttg	attacaacat	gctgcaccgc	aagcattggg	540
	agcaccacaa	ccacactggc	gaggtgggca	aggaccctga	cttccacagg	ggaaaccctg	600
	gcattgtgcc	ctggtttgcc	agcttcatgt	ccagctacat	gtcgatgtgg	cagtttgcgc	660
20	gcctcgcatg	gtggacgggt	gtcatgcagc	tgctgggtgc	gccaatggcg	aacctgctgg	720
	tggtcatggc	ggccgcgccc	atcctgtccg	ccttccgctt	gttctacttt	ggcacgtaca	780
	tgccccacaa	gcctgagcct	ggcgccgcgt	caggctcttc	accagccgtc	atgaactggt	840
	ggaagtgcgc	cactagccag	gcgtccgacc	tggtcagctt	tctgacctgc	taccacttcg	900
	acctgcactg	ggagcaccac	cgctggccct	ttgcccctg	gtgggagctg	cccaactgcc	960
25	gccgcctgtc	tggccgaggt	ctggttcctg	cctagctgga	cacactgcag	tgggccttgc	1020
	tgccagctgg	gcctgcaggt	tgtggcagga	ctgggtgagg	tgaaaagctg	caggcgctgc	1080
	tgccggacac	gctgcatggg	ctaccctgtg	tagctgccgc	cactagggga	gggggtttgt	1140
	agctgtcgag	cttgc					

30

Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-Teasy (Promega) kloniert und der Klon pGKETO2 erhalten.

35

Sequenzierung des Klons pGKETO2 mit dem T7- und dem SP6-Primer bestätigte eine Sequenz, die sich lediglich in den drei Codons 73, 114 und 119 in je einer Base von der publizierten Sequenz X86782 unterscheidet. Diese Nukleotidaustausche wurden in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentieren somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Haematococcus pluvialis* Stamm 192.80.

40

Dieser Klon wurde für die Expression der Ketolase von *Haematococcus pluvialis* verwendet. Die Transformation der *E.coli* Stämme, deren Kultivierung und die Analyse des Carotinoidprofils erfolgte wie in Beispiel 3 beschrieben.

45

Tabelle 1 zeigt einen Vergleich der bakteriell produzierten Carotinoidmengen:

Tabelle 1: Vergleich der bakteriellen Ketocarotinoid-Synthese bei Verwendung zweier verschiedener Ketolasen, der NOST-Ketolase aus *Nostoc* sp. PCC7120 (Beispiel 1) und der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* (Beispiel 4). Carotinoidmengen sind in

ng/ ml Kulturflüssigkeit angegeben.

Ketolase aus	Astaxanthin	Adonirubin	Adonixanthin	Canthaxanthin	Zeaxanthin
<i>Haematococcus pluvialis</i> <i>Flotow em. Wille</i>	13		102		738
<i>Nostoc sp. Strain</i> <i>PCC7120</i>	491	186		120	

Beispiel 5:

- 5 Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert

Die DNA, die für die NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type Culture Collection") amplifiziert.

Für die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, die 1 Woche mit Dauerlicht und konstantem Schütteln (150 rpm) at 25°C in BG 11-Medium (1,5 g/l NaNO<sub>3</sub>, 0,04 g/l K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, 0,075 g/l MgSO<sub>4</sub>·xH<sub>2</sub>O, 0,036 g/l CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,006 g/l citric acid, 0,006 g/l Ferric ammonium citrate, 0,001 g/l EDTA disodium magnesium, 0,04 g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1 ml Trace Metal Mix "A5+Co" (2,86 g/l H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 1,81 g/l MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0,222 g/l ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,39 g/l Na-MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,079 g/l CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0,0494 g/l Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O)) gewachsen war, wurden die Zellen durch Zentrifugation geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert.

Protokoll für die DNA-Isolation aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133:

Aus einer 10 ml Flüssigkultur wurden die Bakterienzellen durch 10minütige Zentrifugation bei 8000 rpm pelletiert. Anschließend wurden die Bakterienzellen in flüssigem Stickstoff mit einem Mörser zerstoßen und gemahlen. Das Zellmaterial wurde in 1 ml 10mM Tris-HCl (pH 7.5) resuspendiert und in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (2ml Volumen) überführt. Nach Zugabe von 100 µl Proteinase K (Konzentration: 20 mg/ml) wurde die Zellsuspension für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Suspension mit 500 µl Phenol extrahiert. Nach 5minütiger Zentrifugation bei 13000 upm wurde die obere, wässrige Phase in ein neues 2-ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion mit Phenol wurde 3mal wiederholt. Die DNA wurde durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M Natriumacetat (pH 5,2) und 0,6 Volumen Isopropanol gefällt und anschließend mit 70 % Ethanol gewaschen. Das DNA-Pellet wurde bei Raum-

temperatur getrocknet, in 25 µl Wasser aufgenommen und unter Erhitzung auf 65°C gelöst.

- 5 Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NP196-1, SEQ ID No. 100) und eines antisense-spezifischen Primers (NP196-2 SEQ ID No. 101) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

10

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 15 - 1 µl einer *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 DNA (hergestellt wie oben beschrieben)  
- 0.25 mM dNTPs  
- 0.2 mM NP196-1 (SEQ ID No. 100)  
- 0.2 mM NP196-2 (SEQ ID No. 101)  
- 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)  
20 - 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)  
- 25.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 25 1X94°C 2 Minuten  
35X94°C 1 Minute  
55°C 1 Minuten  
72°C 3 Minuten  
1X72°C 10 Minuten

30

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 100 und SEQ ID No. 101 resultierte in einem 792 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (NP196, SEQ ID No. 102). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und der  
35 Klon pNP196 erhalten.

- Sequenzierung des Klons pNP196 mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 140.571-139.810 des Datenbank-eintrages NZ\_AABC01000196 identisch ist (inverse orientiert zum ver-  
40 öffentlichen Datenbankeintrag) mit der Ausnahme, daß G in Position 140.571 durch A

ersetzt wurde, um ein Standard-Startkodon ATG zu erzeugen. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nostoc punctiforme* ATCC 29133.

- 5 Dieser Klon pNP196 wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117 (Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380) verwendet.

- 10 pJIT117 wurde modifiziert, indem der 35S-Terminator durch den OCS-Terminator (Octopine Synthase) des Ti-Plasmides pTi15955 von *Agrobacterium tumefaciens* (Datenbankeintrag X00493 von Position 12,541-12,350, Gielen et al. (1984) EMBO J. 3 835-846) ersetzt wurde.

- 15 Das DNA-Fragment, das die OCS-Terminatorregion beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung des Plasmides pHELLSGATE (Datenbankeintrag AJ311874, Wesley et al. (2001) Plant J. 27 581-590, nach Standardmethoden aus *E. coli* isoliert) sowie der Primer OCS-1 (SEQ ID No. 133) und OCS-2 (SEQ ID No. 134) hergestellt.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

- 20 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die die Octopine Synthase (OCS) Terminatorregion (SEQ ID No. 106) beinhaltet, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten waren:

- 100 ng pHELLSGATE plasmid DNA
- 25 - 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM OCS-1 (SEQ ID No. 104)
- 0.2 mM OCS-2 (SEQ ID No. 105)
- 5 µl 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 0.25 µl Pfu-Polymerase (Stratagene)
- 30 - 28.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 1X94°C 2 Minuten
- 35 35X 94°C 1 Minute
- 50°C 1 Minute
- 72°C 1 Minute
- 1X72°C 10 Minuten

Das 210 bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pOCS erhalten.

- 5 Sequenzierung des Klons pOCS bestätigte eine Sequenz, die mit einem Sequenzabschnitt auf dem Ti-Plasmid pTi15955 von *Agrobacterium tumefaciens* (Datenbankeintrag X00493) von Position 12.541 bis 12.350 übereinstimmt.

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 210 bp Sall-XhoI Fragmentes aus pOCS und Ligierung in den Sall-XhoI geschnittenen Vektor pJIT117.

- 10 Dieser Klon heisst pJO und wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP196 verwendet.

- 15 Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 782 Bp SphI-Fragmentes aus pNP196 und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJO. Der Klon, der die NP196-Ketolase von *Nostoc punctiforme* in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJONP196.

Beispiel 6:

- 20 Herstellung von Expressionsvektoren zur konstitutiven Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*.

- 25 Die Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und in *Tagetes erecta* erfolgte unter Kontrolle des konstitutiven Promotors FNR (Ferredoxin-NADPH- Oxidoreductase, Datenbankeintrag AB011474 Position 70127 bis 69493; WO03/006660), aus *Arabidopsis thaliana*. Das FNR-Gen beginnt bei Basenpaar 69492 und ist mit "Ferredoxin-NADP+ Reductase" annotiert. Die Expression erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715).

- 30 Das DNA Fragment, das die FNR Promotorregion aus *Arabidopsis thaliana* beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung genomischer DNA (nach Standardmethoden aus *Arabidopsis thaliana* isoliert) sowie der Primer FNR-1 (SEQ ID No. 107) und FNR-2 (SEQ ID No. 108) hergestellt.

- 35 Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die das FNR-Promotorfragment FNR (SEQ ID No. 109) beinhaltet, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 40 - 100 ng genomischer DNA aus *A.thaliana*



- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM FNR-1 (SEQ ID No. 107)
- 0.2 mM FNR-2 (SEQ ID No. 108)
- 5 µl 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 5 - 0.25 µl Pfu Polymerase (Stratagene)
- 28.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 10 1X94°C 2 Minuten
- 35X94°C 1 Minute
- 50°C 1 Minute
- 72°C 1 Minute
- 1X72°C 10 Minuten

15

Das 652 bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pFNR erhalten.

20

Sequenzierung des Klons pFNR bestätigte eine Sequenz, die mit einem Sequenzabschnitt auf Chromosom 5 von *Arabidopsis thaliana* (Datenbankeintrag AB011474) von Position 70127 bis 69493 übereinstimmt.

25

Dieser Klon heisst pFNR und wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP196 (in Beispiel 5 beschrieben) verwendet.

30

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 644 bp SmaI-HindIII Fragmentes aus pFNR und Ligierung in den Ecl136II-HindIII geschnittenen Vektor pJONP196. Der Klon, der den Promotor FNR anstelle des ursprünglichen Promotors d35S und das Fragment NP196 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem *rbcS* Transitpeptid enthält, heisst pJOFNR:NP196.

35

Die Herstellung einer Expressionskassette für die Agrobacterium vermittelte Transformation der NP196-Ketolase aus *Nostoc* in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

40

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP105 wurde das 1.839 bp EcoRI-XhoI Fragment aus pJOFNR:NP196 mit dem EcoRI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. Der Expressionsvektors MSP105 enthält Fragment *FNR Promotor* den FNR Promotor (635 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP196 KETO CDS* (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme*

NP196-Ketolase , Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von der Octopin- Synthase.

5 Die Herstellung einer Expressionskassette für die *Agrobacterium*-vermittelte Transformation des Expressionsvektor mit der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO02/00900).

10 Zur Herstellung des *Tagetes*-Expressionsvektors MSP106 wurde das 1.839 bp EcoRI-XhoI Fragment aus pJOFNR:NP196 mit dem EcoRI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN5 ligiert . MSP106 beinhaltet Fragment *FNR Promotor* den FNR Promotor (635 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP196 KETO CDS* (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP196-Ketolase , Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-  
15 Synthase.

#### Beispiel 7:

Herstellung von Expressionsvektoren zur blütenspezifischen Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*  
20

Die Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und *Tagetes erecta* erfolgte mit dem Transitpeptid *rbcS* aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter Kontrolle des blütenspezifischen Promotors EPSPS aus *Petunia hybrida* (Datenbankeintrag M37029: Nukleotidregion 7-1787; Benfey et al. (1990) Plant Cell 2: 849-856).  
25

Das DNA Fragment, das die EPSPS Promotorregion (SEQ ID No. 112) aus *Petunia hybrida* beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung genomischer DNA (nach Standardmethoden aus *Petunia hybrida* isoliert) sowie der Primer EPSPS-1 (SEQ ID No. 110) und EPSPS-2 (SEQ ID No. 111) hergestellt.  
30

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

35 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die das EPSPS-Promotorfragment (Datenbankeintrag M37029: Nukleotidregion 7-1787) beinhaltet, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 40 - 100 ng genomischer DNA aus *A.thaliana*
- 0.25 mM dNTPs

- 0.2 mM EPSPS-1 (SEQ ID No. 110)
- 0.2 mM EPSPS-2 (SEQ ID No. 111)
- 5 µl 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 0.25 µl Pfu Polymerase (Stratagene)
- 5 - 28.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 1X94°C 2 Minuten
- 10 35X 94°C 1 Minute
- 50°C 1 Minute
- 72°C 2 Minuten
- 1X72°C 10 Minuten

- 15 Das 1773 Bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pEPSPS erhalten.

- Sequenzierung des Klons pEPSPS bestätigte eine Sequenz, die sich lediglich durch zwei Deletion (Basen ctaagtttcagga in Position 46-58 der Sequenz M37029; Basen  
20 aaaaatat in Position 1422-1429 der Sequenz M37029) und die Basenaustausche (T statt G in Position 1447 der Sequenz M37029; A statt C in Position 1525 der Sequenz M37029; A statt G in Position 1627 der Sequenz M37029) von der publizierten EPSPS-Sequenz (Datenbankeintrag M37029; Nukleotidregion 7-1787) unterscheidet. Die zwei  
25 Deletionen und die zwei Basenaustausche an den Positionen 1447 und 1627 der Sequenz M37029 wurden in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentieren somit die tatsächliche Nukleotidsequenz in den verwendeten *Petunia hybrida* Pflanzen.

- 30 Der Klon pEPSPS wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP196 (in Beispiel 5 beschrieben) verwendet.

- Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 1763 Bp SacI-HindIII Fragmentes aus pEPSPS und Ligierung in den SacI-HindIII geschnittenen Vektor pJONP196. Der Klon, der den Promotor EPSPS anstelle des ursprünglichen Promotors d35S enthält, heisst  
35 pJOESP:NP196. Diese Expressionskassette enthält das Fragment NP196 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS-Transitpeptid.

- Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC  
40 29133 in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3

(WO02/00900).

- Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP107 wurde das 2.961 KB bp SacI-XhoI Fragment aus pJOESP:NP196 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert.
- 5 Der Expressionsvektors MSP107 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP196 KETO CDS* (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP196-Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.
- 10 Die Herstellung einer Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO02/00900).
- 15 Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP108 wurde das 2.961 KB bp SacI-XhoI Fragment aus pJOESP:NP196 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN5 ligiert. Der Expressionsvektors MSP108 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP196 KETO CDS* (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP196-
- 20 Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Beispiel 8:

- Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NP195-Ketolase aus
- 25 *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert

- Die DNA, die für die NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type Culture Collection") amplifiziert. Die Präparation von genomischer DNA aus einer Sus-
- 30 pensionskultur von *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 wurde in Beispiel 5 beschrieben.

- Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NP195-1, SEQ ID No. 113) und
- 35 eines antisense-spezifischen Primers (NP195-2 SEQ ID No. 114) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

- Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der
- 40 gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem ent-

halten war:

- 1 ul einer *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 5 - 0.2 mM NP195-1 (SEQ ID No. 113)
- 0.2 mM NP195-2 (SEQ ID No. 114)
- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 ul Aq. Dest.

10

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

1X94°C 2 Minuten

35X94°C 1 Minute

15

55°C 1 Minuten

72°C 3 Minuten

1X72°C 10 Minuten

- 20 Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 113 und SEQ ID No. 114 resultierte in einem 819 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (NP195, SEQ ID No. 115). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pNP195 erhalten.

- 25 Sequenzierung des Klons pNP195 mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 55,604-56,392 des Datenbank-eintrages NZ\_AABC010001965 identisch ist, mit der Ausnahme, daß T in Position 55,604 durch A ersetzt wurde, um ein Standard-Startkodon ATG zu erzeugen. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment re-
- 30 produziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nostoc punctiforme* ATCC 29133.

- 35 Dieser Klon pNP195 wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJ0 (in Beispiel 5 beschrieben) verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 809 Bp SphI-Fragmentes aus pNP195 und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJ0. Der Klon, der die NP195-Ketolase von *Nostoc punctiforme* in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJONP195.

- 40 Beispiel 9:

Herstellung von Expressionsvektoren zur konstitutiven Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*.

- Die Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und in
- 5 *Tagetes erecta* erfolgte unter Kontrolle des konstitutiven Promotors FNR (Ferredoxin-NADPH-Oxidoreductase, Datenbankeintrag AB011474 Position 70127 bis 69493; WO03/006660), aus *Arabidopsis thaliana*. Das FNR-Gen beginnt bei Basenpaar 69492 und ist mit "Ferredoxin-NADP+ Reductase" annotiert. Die Expression erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715).
- 10 Der Klon pFNR (in Beispiel 6 beschrieben) wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP195 (in Beispiel 8 beschrieben) verwendet.
- Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 644 bp Sma-
- 15 HindIII Fragmentes aus pFNR und Ligierung in den Ecl136II-HindIII geschnittenen Vektor pJONP195. Der Klon, der den Promotor FNR anstelle des ursprünglichen Promotors d35S und das Fragment NP195 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJOFNR:NP195.
- 20 Die Herstellung einer Expressionskassette für die Agrobacterium vermittelte Transformation der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).
- 25 Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP109 wurde das 1.866 bp EcoRI-XhoI Fragment aus pJOFNR:NP195 mit dem EcoRI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. Der Expressionsvektor MSP109 beinhaltet Fragment *FNR Promotor* den FNR Promotor (635 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das rbcS Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP195 KETO CDS* (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme*
- 30 NP195-Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von der Octopin- Synthase.
- Die Herstellung einer Expressionskassette für die *Agrobacterium*-vermittelte Transformation des Expressionsvektor mit der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* puncti-
- 35 forme in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO 02/00900).
- Zur Herstellung des *Tagetes*-Expressionsvektors MSP110 wurde das 1.866 bp EcoRI-XhoI Fragment aus pJOFNR:NP195 mit dem EcoRI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN5
- 40 ligiert. Der Expressionsvektor MSP110 beinhaltet Fragment *FNR Promotor* den FNR

Promotor (635 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NP195 KETO CDS (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP195-Ketolase, Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

5

Beispiel 10:

Herstellung von Expressionsvektoren zur blütenspezifischen Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*.

10

Die Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und *Tagetes erecta* erfolgte mit dem Transitpeptid *rbcS* aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter Kontrolle des blütenspezifischen Promotors EPSPS aus *Petunia hybrida* (Datenbankeintrag M37029: Nukleotidregion 7-1787; Benfey et al. (1990) Plant Cell 2: 849-856).

15

Der Klon pEPSPS (in Beispiel 7 beschrieben) wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP195 (in Beispiel 8 beschrieben) verwendet.

20

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 1763 Bp *SacI*-*HindIII* Fragmentes aus pEPSPS und Ligierung in den *SacI*-*HindIII* geschnittenen Vektor pJONP195. Der Klon, der den Promotor EPSPS anstelle des ursprünglichen Promotors d35S enthält, heisst pJOESP:NP195. Diese Expressionskassette enthält das Fragment NP195 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem *rbcS*-

25

Transitpeptid.

Die Herstellung eines Expressionsvektors für die *Agrobacterium*-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

30

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP111 wurde das 2.988 KB bp *SacI*-*XhoI* Fragment aus pJOESP:NP195 mit dem *SacI*-*XhoI* geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. Der Expressionsvektor MSP111 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NP195 KETO CDS (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP195-Ketolase, Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

35

Die Herstellung einer Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO02/00900).

- 5 Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP112 wurde das 2.988 KB bp SacI-XhoI Fragment aus pJOESP:NP195 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN5 ligiert. Der Expressionsvektors MSP112 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP195 KETO CDS* (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP195-Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Beispiel 11:

- 15 Herstellung einer Expressionskassette zur blütenspezifischen Überexpression der chromoplastenspezifischen Beta-Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum*.

- Die Expression der chromoplastenspezifischen Beta-Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum* in *Tagetes erecta* erfolgt unter Kontrolle des blütenspezifischen Promotors EPSPS aus Petunie (Beispiel 7). Als Terminatorelement wird LB3 aus *Vicia faba* verwendet. Die Sequenz der chromoplastenspezifischen Beta-Hydroxylase wurde durch RNA Isolierung, reverse Transkription und PCR hergestellt.

- 25 Für die Herstellung der LB3-Terminator-Sequenz aus *Vicia faba* wird genomische DNA aus *Vicia faba*-Gewebe nach Standardmethoden isoliert und durch genomische PCR unter Verwendung der Primer PR206 und PR207 eingesetzt. Die PCR zur Amplifikation dieses LB3 DNA-Fragmentes, erfolgt in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten ist:

- 30 - 1 µl cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)  
- 0.25 mM dNTPs  
- 0.2 µM PR206 (SEQ ID No. 116)  
- 0.2 µM PR207 (SEQ ID No. 117)  
- 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)  
- 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)  
35 - 28.8 µl Aq. Dest.

- Die PCR-Amplifikation mit PR206 und PR207 resultiert in einem 0.3 kb Fragment das für den LB-Terminator enthaelt. Das Amplifikat wird in den Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen) kloniert. Sequenzierungen mit den Primern T7 und M13 bestätigen  
40 eine zur Sequenz SEQ ID: 118 identische Sequenz. Dieser Klon heisst pTA-LB3 und



wird daher für die Klonierung in den Vektor pJIT117 verwendet (siehe unten).

Für die Herstellung der Beta-Hydroxylase-Sequenz wird Total-RNA aus Tomate präpa-  
riert. Dazu werden 100 mg der gefrorenen, pulverisierten Blüten in ein Reaktionsgefäß  
5 überführt und in 0,8 ml Trizol-Puffer (LifeTechnologies) aufgenommen. Die Suspension  
wird mit 0,2 ml Chloroform extrahiert. Nach 15 minütiger Zentrifugation bei 12000 g  
wird der wässrige Überstand abgenommen und in ein neues Reaktionsgefäß überführt  
und mit einem Volumen Ethanol extrahiert. Die RNA wird mit einem Volumen Isopro-  
panol gefällt, mit 75 % Ethanol gewaschen und das Pellet in DEPC Wasser (über  
10 Nacht Inkubation von Wasser mit 1/1000 Volumen Diethylpyrocarbonat bei Raumtem-  
peratur, anschließend autoklaviert) gelöst. Die RNA-Konzentration wird photometrisch  
bestimmt. Für die cDNA-Synthese werden 2,5 ug Gesamt-RNA für 10 min bei 60°C  
denaturiert, für 2 min auf Eis abgekühlt und mittels eines cDNA-Kits (Ready-to-go-you-  
prime-beads, Pharmacia Biotech) nach Herstellerangaben unter Verwendung eines  
15 antisense spezifischen Primers (PR215 SEQ ID No. 119) in cDNA umgeschrieben.

Die Bedingungen der anschließenden PCR-Reaktionen sind die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation des VPR203-PR215 DNA-Fragmentes, das fuer die Beta-  
20 Hydroxylase kodiert, erfolgt in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 1 ul cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 uM VPR203 (SEQ ID No. 120)
- 25 - 0.2 uM PR215 (SEQ ID No. 119)
- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
- 28.8 ul Aq. Dest.

30 Die PCR-Amplifikation mit VPR203 und PR215 resultiert in einem 0.9 kb Fragment das  
für die Beta-Hydroxylase kodiert. Das Amplifikat wird in den Klonierungsvektor pCR-  
BluntII (Invitrogen) kloniert. Sequenzierungen mit den Primern T7 und M13 bestätigen  
eine zur Sequenz SEQ ID No. 121 identische Sequenz. Dieser Klon heisst pTA-CrtR-  
b2 und wird daher für die Klonierung in den Vektor pCSP02 verwendet (siehe unten).

35 Die EPSPS-Promotor-Sequenz aus Petunie wird durch PCR Amplifikation unter Ver-  
wendung des Plasmides MSP107 (s. Beispiel 7) und der Primer VPR001 und VPR002  
hergestellt. Die PCR zur Amplifikation dieses EPSPS-DNA-Fragmentes, erfolgt in ei-  
nem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten ist:

40

- 1 µl cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 µM VPR001 (SEQ ID No. 122)
- 0.2 µM VPR002 (SEQ ID No. 123)
- 5 - 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
- 28.8 µl Aq. Dest.

10 Die PCR-Amplifikation mit VPR001 und VPR002 resultiert in einem 1.8 kb Fragment das den EPSPS-Promotor kodiert. Das Amplifikat wird in den Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen) kloniert. Sequenzierungen mit den Primern T7 und M13 bestätigen eine zur Sequenz SEQ ID: 124 identische Sequenz. Dieser Klon heisst pTA-EPSPS und wird daher für die Klonierung in den Vektor pCSP03 verwendet (siehe unten).

15 Der erste Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 0,3 kb PR206-PR207 EcoRI-XhoI Fragmentes aus pTA-LB3, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen), und Ligierung mit dem EcoRI-XhoI geschnittenen Vektor pJIT117. Der Klon, der den 0,3 kb Terminator LB3 enthält, heisst pCSP02.

20 Der zweite Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 0,9 kb VPR003-PR215 EcoRI-HindIII Fragmentes aus pTA-CrtR-b2, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen), und Ligierung mit dem EcoRI-HindIII geschnittenen Vektor pCSP02. Der Klon, der das 0,9 kb Beta-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2 enthält, heisst pCSP03. Durch die Ligation entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem Terminator LB3  
25 und dem Beta-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2.

Der dritte Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 1,8 kb VPR001-VPR002 NcoI-SacI Fragmentes aus pTA-EPSPS, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen), und Ligierung mit dem NcoI-SacI geschnittenen Vektor pCSP03. Der Klon,  
30 der das 1,8 kb EPSPS Promotor-Fragment enthält, heisst pCSP04. Durch die Ligation entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem EPSPS-Promotor und dem Beta-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2. pCSP04 beinhaltet Fragment EPSPS (1792 bp) den EPSPS Promotor, das Fragment *crtRb2* (929 bp) die Beta-Hydroxylase CrtRb2, Fragment LB3 (301 bp) den LB3 Terminator.

35 Zur Klonierung dieser Hydroxylase-Überexpressionskassette in Expressionsvektoren für die Agrobacterium-vermittelte Transformation von *Tagetes erecta* wird die Beta-Hydroxylase-Kassette als 3103 bp Ecl136II-XhoI Fragmentes isoliert. Das Auffüllen der 3'Enden (30 min bei 30°C) erfolgt nach Standardmethoden (Klenow-fill-in).

Der Expressionsvektor heißt pCSEbhyd

**Beispiel 12:**

- Herstellung von Expressionsvektoren zur blütenspezifischen Expression der chromoplastenspezifischen Lycopin Beta-Cyclase aus *Lycopersicon esculentum* unter Kontrolle des Promotors P76 und zur blütenspezifischen Expression der Ketolase NP196 aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Kontrolle des EPSPS Promotors

- Isolation von Promotor P76 (SEQ ID NO. 125) mittels PCR mit genomischer DNA von *Arabidopsis thaliana* als Matrize.

Hierzu wurden die Oligonukleotid Primer P76for (SEQ ID NO. 126) und P76rev (SEQ ID NO. 127) verwendet. Die Oligonukleotide wurden bei der Synthese mit einem 5' Phosphatrest versehen.

- P76 for 5'-CCCGGGTGCCAAAGTAACTCTTTAT-3'  
P76 rev 5'-GTCGACAGGTGCATGACCAAGTAAC-3'

Die genomische DNA wurde aus *Arabidopsis thaliana* wie beschrieben (Galbiati M et al. Funct. Integr. Genomics 2000, 20 1:25-34) isoliert.

Die PCR Amplifikation wurde wie folgt durchgeführt:

80 ng genomische DNA  
1x Expand Long Template PCR Puffer  
2,5 mM MgCl<sub>2</sub>  
je 350 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP  
je 300 nM eines jeden Primers  
2,5 Units Expand Long Template Polymerase  
in einem Endvolumen von 25 µl

Folgendes Temperaturprogramm wird verwendet:

1 Zyklus mit 120 sec bei 94°C  
35 Zyklen mit 94°C für 10 sec,  
48°C für 30 sec und  
68°C für 3 min  
1 Zyklus mit 68°C für 10 min

Das PCR Produkt wird mit Agarosegelelektrophorese aufgetrennt und das 1032 bp Fragment durch Gelelektion isoliert.

5 Der Vektor pSun5 wird mit der Restriktionsendonuklease EcoRV verdaut und ebenfalls über Agarosegelelektrophorese aufgereinigt und durch Gelelektion gewonnen.

Das gereinigte PCR Produkt wird in den so behandelten Vektor kloniert.

10 Dieses Konstrukt wird mit p76 bezeichnet. Das 1032 bp lange Fragment, welches den Promotor P76 aus Arabidopsis darstellt, wurde sequenziert (Seq ID NO. 131).

Der Terminator 35ST wird aus pJIT 117 durch Verdau mit den Restriktionsendonukleasen KpnI und SmaI gewonnen. Das hierbei entstehende 969 bp Fragment wird mit Agarosegelelektrophorese gereinigt und durch Gelelektion isoliert.

15 Der Vektor p76 wird ebenfalls mit den Restriktionsendonukleasen KpnI und SmaI verdaut. Das entstehende 7276bp Fragment wird mit Agarosegelelektrophorese gereinigt und durch Gelelektion isoliert.

Das so gewonnene 35ST- Fragment wird in den so behandelten p76 kloniert.

Der entstehende Vektor wird mit p76\_35ST bezeichnet.

20

Die Isolation des Bgene (SEQ ID NO. 128) erfolgte mittels PCR mit genomischer DNA von *Lycopersicon esculentum* als Matrize.

25 Hierzu wurden die Oligonukleotid Primer BgeneFor (SEQ ID NO. 129) und BgeneRev (SEQ ID NO. 130) verwendet. Die Oligonukleotide wurden bei der Synthese mit einem 5' Phosphatrest versehen.

SEQ ID NO 129: Bgenefor: 5'-CTATTGCTAGATTGCCAATCAG-3'

SEQ ID NO 130 Bgenerev: 5'-ATGGAAGCTCTTCTCAAG-3'

30 Die genomische DNA wurde aus *Lycopersicon esculentum* wie beschrieben (Galbiati M et al. Funct. Integr. Genomics 2000, 20 1:25-34) isoliert.

Die PCR Amplifikation wurde wie folgt durchgeführt:

- 35 80ng genomische DNA  
1x Expand Long Template PCR Puffer  
2,5 mM MgCl<sub>2</sub>  
je 350 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP  
je 300 nM eines jeden Primers  
40 2,5 Units Expand Long Template Polymerase

in einem Endvolumen von 25 µl

Folgendes Temperaturprogramm wurde verwendet:

- 5 1 Zyklus mit 120 sec bei 94°C
- 35 Zyklen mit 94°C für 10 sec,  
48°C für 30 sec und  
68°C für 3 min
- 1 Zyklus mit 68°C für 10 min

10

Das PCR Produkt wurde mit Agarosegelelektrophorese gereinigt und das 1665 bp Fragment durch Gelelution isoliert.

- 15 Der Vektor p76\_35ST wird mit der Restriktionsendonuklease SmaI verdaut und ebenfalls über Agarosegelelektrophorese aufgereinigt und durch Gelelution gewonnen.

Das gereinigte PCR Produkt wird in den so behandelten Vektor kloniert. Dieses Konstrukt wird mit pB bezeichnet. Das 1486 bp lange Fragment, welches das Bgene aus Tomate darstellt, wurde sequenziert und ist in seiner Nukleotidsequenz  
20 identisch mit dem Datenbankeintrag AF254793 (Seq ID NO. 1).

pB wird mit den Restriktionsendonukleasen PmeI und SspI verdaut und das 3906bp Fragment enthaltend den Promotor P76, Bgene und den 35ST durch Agarosegelelektrophorese gereinigt und durch Gelelution gewonnen

25

MSP108 (Beispiel 7) wird mit der Restriktionsendonuklease Ecl126II verdaut, durch Agarosegelelektrophorese gereinigt und durch Gelelution gewonnen

- 30 Das gereinigte 3906bp Fragment enthaltend den Promotor P76, Bgene und den 35ST aus pB wird in den so behandelten Vector MSP108 kloniert.

Dieses Konstrukt wird mit pMKP1 bezeichnet.

Beispiel 13:

- 35 Herstellung und Analyse transgener *Lycopersicon esculentum* Pflanzen

Transformation und Regeneration von Tomatenpflanzen erfolgte nach der publizierten Methode von Ling und Mitarbeitern (Plant Cell Reports (1998), 17:843-847). Für die Varietät Microtom wurde mit höherer Kanamycin-Konzentration (100mg/L) selektioniert.

40

- Als Ausgangsexplantat für die Transformation dienten Kotyledonen und Hypokotyle sieben bis zehn Tage alter Keimlinge der Linie Microtom. Für die Keimung wurde das Kulturmedium nach Murashige und Skoog (1962: Murashige and Skoog, 1962, *Physiol. Plant* 15, 473-) mit 2 % Saccharose, pH 6.1 verwendet. Die Keimung fand bei 21°C bei
- 5 wenig Licht (20 bis 100  $\mu$ E) statt. Nach sieben bis zehn Tagen wurden die Kotyledonen quer geteilt und die Hypokotyle in ca. 5 bis 10 mm lange Abschnitte geschnitten und auf das Medium MSBN (MS, pH 6,1, 3% Saccharose + 1 mg/l BAP, 0,1 mg/l NAA) gelegt, das am Vortag mit suspensionskultivierten Tomatenzellen beschickt wurde. Die Tomatenzellen wurden luftblasenfrei mit sterilem Filterpapier abgedeckt. Die Vorkultur
- 10 der Explantate auf dem beschriebenen Medium erfolgte für drei bis fünf Tage. Zellen des Stammes *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 wurden einzeln mit den Plasmiden transformiert. Von den einzelnen mit den Binärvektoren transformierten *Agrobacterium*-Stämmen wurde jeweils eine Übernachtskultur in YEB Medium mit Kanamycin (20 mg/l) bei 28 Grad Celsius kultiviert und die Zellen zentrifugiert. Das Bakterienpellet wurde mit
- 15 flüssigem MS Medium (3 % Saccharose, pH 6,1) resuspendiert und auf eine optische Dichte von 0,3 (bei 600 nm) eingestellt. Die vorkultivierten Explantate wurden in die Suspension überführt und für 30 Minuten bei Zimmertemperatur unter leichtem Schütteln inkubiert. Anschließend wurden die Explantate mit sterilem Filterpapier getrocknet und für die dreitägige Co-Kultur (21°C) auf ihr Vorkulturmedium zurück gelegt.
- 20 Nach der Co-kultur wurden die Explantate auf MSZ2 Medium (MS pH 6,1 + 3 % Saccharose, 2 mg/l Zeatin, 100 mg/l Kanamycin, 160 mg/l Timentin) transferiert und für die selektive Regeneration bei 21°C unter Schwach Bedingungen (20 bis 100  $\mu$ E, Licht-rhythmus 16 h/8 h) aufbewahrt. Alle zwei bis drei Wochen erfolgte der Transfer der
- 25 Explantate bis sich Sprosse bilden. Kleine Sprosse konnten vom Explantat abgetrennt werden und auf MS (pH 6,1 + 3 % Saccharose) 160 mg/l Timentin, 30 mg/l Kanamycin, 0,1 mg/l IAA bewurzelt werden. Bewurzelte Pflanzen wurden ins Gewächshaus überführt.
- 30 Gemäß der oben beschriebenen Transformationsmethode wurden mit folgenden Expressionskonstrukten folgende Linien erhalten:
- Mit MSP105 wurde erhalten: msp105-1, msp105-2, msp105-3  
Mit MSP107 wurde erhalten: msp107-1, msp107-2, msp107-3  
35 Mit MSP109 wurde erhalten: msp109-1, msp109-2, msp109-3  
Mit MSP111 wurde erhalten: msp111-1, msp111-2, msp111-3

## Beispiel 14:

## Herstellung transgener Tagetes Pflanzen

- 5 Tagetessamen werden sterilisiert und auf Keimungsmedium (MS-Medium; Murashige and Skoog, *Physiol. Plant.* 15(1962), 473-497) pH 5,8, 2 % Saccharose) aufgelegt. Die Keimung erfolgt in einem Temperatur/Licht/Zeitintervall von 18 bis 28°C/20-200 µE/3 bis 16 Wochen, bevorzugt jedoch bei 21°C, 20 bis 70 mE, für 4 bis 8 Wochen.

- 10 Alle Blätter der sich bis dahin entwickelten in vitro Pflanzen werden geerntet und quer zur Mittelrippe geschnitten. Die dadurch entstehenden Blattexplantate mit einer Größe von 10 bis 60 mm<sup>2</sup> werden im Verlaufe der Präparation in flüssigem MS-Medium bei Raumtemperatur für maximal 2 Stunden aufbewahrt.

- 15 Ein beliebiger Agrobakterium tumefaciens Stamm, bevorzugt aber ein supervirulenter Stamm, wie z.B. EHA105 mit einem entsprechenden Binärplasmid, das ein Selektionsmarkergen (bevorzugt *bar* oder *pat*) sowie ein oder mehrere Trait- oder Reportergene tragen kann wird, über Nacht angezogen und für die Co-Kultivierung mit dem Blattmaterial verwendet. Die Anzucht des Bakterienstammes kann wie folgt erfolgen: Eine Einzelkolonie des entsprechenden Stammes wird in YEB (0,1 % Hefeextrakt, 0,5 % Rindfleischextrakt, 0,5 % Pepton, 0,5 % Saccharose, 0,5 % Magnesiumsulfat x 7 H<sub>2</sub>O) mit 25 mg/l Kanamycin angeimpft und bei 28°C für 16 bis 20 Stunden angezogen. Anschließend wird die Bakteriensuspension durch Zentrifugation bei 6000 g für 10 min geerntet und derart in flüssigem MS Medium resuspendiert, dass eine OD<sub>600</sub> von ca. 0,1 bis 0,8 entstand. Diese Suspension wird für die Co-Kultivierung mit dem Blattmaterial verwendet.
- 25

- 30 Unmittelbar vor der Co-Kultivierung wird das MS-Medium, in dem die Blätter aufbewahrt worden sind, durch die Bakteriensuspension ersetzt. Die Inkubation der Blättchen in der Agrobakteriensuspension erfolgte für 30 min unter leichtem Schütteln bei Raumtemperatur. Anschließend werden die infizierten Explantate auf ein mit Agar (z.B. 0,8 % Plant Agar (Duchefa, NL) verfestigtes MS-Medium mit Wachstumsregulatoren, wie beispielsweise 3 mg/l Benzylaminopurin (BAP) sowie 1 mg/l Indolyllessigsäure (IAA) aufgelegt. Die Orientierung der Blätter auf dem Medium ist bedeutungslos. Die Kultivierung der Explantate findet für 1 bis 8 Tage, bevorzugt aber für 6 Tage statt, dabei können folgende Bedingungen angewendet werden: Lichtintensität: 30 bis 80 µMol/m<sup>2</sup> x sec, Temperatur: 22 bis 24°C, hell/dunkel Wechsel von 16/8 Stunden. Anschließend werden die co-kultivierten Explantate auf frisches MS-Medium, bevorzugt mit den gleichen Wachstumsregulatoren übertragen, wobei dieses zweite Medium zusätzlich ein Antibiotikum zur Unterdrückung des Bakterienwachstums enthält. Timentin
- 35
- 40 in einer Konzentration von 200 bis 500 mg/l ist für diesen Zweck sehr geeignet. Als

zweite selektive Komponente wird eine für die Selektion des Transformationserfolges eingesetzt. Phosphinothricin in einer Konzentration von 1 bis 5 mg/l selektiert sehr effizient, aber auch andere selektive Komponenten gemäß des zu verwendenden Verfahrens sind denkbar.

5

Nach jeweils ein bis drei Wochen erfolgt der Transfer der Explantate auf frisches Medium bis sich Sprossknospen und kleine Sprosse entwickeln, die dann auf das gleiche Basalmedium einschließlich Timentin und PPT oder alternative Komponenten mit Wachstumsregulatoren, nämlich z.B. 0,5 mg/l Indolylbuttersäure (IBA) und 0,5 mg/l

10

Gibberellinsäure  $GA_3$ , zur Bewurzelung übertragen werden. Bewurzelte Sprosse können ins Gewächshaus überführt werden.

Zusätzlich zu der beschriebenen Methode sind folgende vorteilhafte Modifikationen möglich:

15

- Bevor die Explantate mit den Bakterien infiziert werden, können sie für 1 bis 12 Tage, bevorzugt 3 bis 4, auf das oben beschriebene Medium für die Co-Kultur vorinkubiert werden. Anschließend erfolgt die Infektion, Co-Kultur und selektive Regeneration wie oben beschrieben.

20

- Der pH Wert für die Regeneration (normalerweise 5,8) kann auf pH 5,2 gesenkt werden. Dadurch wird die Kontrolle des Agrobakterienwachstums verbessert.

25

- Die Zugabe von  $AgNO_3$  (3 bis 10 mg/l) zum Regenerationsmedium verbessert den Zustand der Kultur einschließlich der Regeneration selbst.

- Komponenten, die die Phenolbildung reduzieren und dem Fachmann bekannt sind, wie z.B. Zitronensäure, Ascorbinsäure, PVP u.v.a.m., wirken sich positiv auf die Kultur aus.

30

- Für das gesamte Verfahren kann auch flüssiges Kulturmedium Verwendung finden. Die Kultur kann auch auf handelsüblichen Trägern, die auf dem flüssigen Medium positioniert werden inkubiert werden.

35

Gemäß der oben beschriebenen Transformationsmethode wurden mit folgenden Expressionskonstrukten folgende Linien erhalten:

Mit MSP106 wurde erhalten: msp106-1, msp106-2, msp106-3

Mit MSP108 wurde erhalten: msp108-1, msp108-2, msp108-3

40

Mit MSP110 wurde erhalten: msp110-1, msp110-2, msp110-3



Mit MSP112 wurde erhalten: msp112-1, msp112-2, msp112-3

Mit pCSEbhyd wurde erhalten: csebhyd-1, csebhyd-2, csebhyd-3.

Mit pMKP1 wurde erhalten: mkp1-1, mkp1-2, mkp1-3.

5

Beispiel 15: Enzymatische Lipase-katalysierte Hydrolyse von Carotinoidestern aus Pflanzenmaterial und Identifizierung der Carotinoide

10 Allgemeine Arbeitsvorschrift

a) Gemörseretes Pflanzenmaterial (z.B. Petalenmaterial) (30-100 mg Frischgewicht) wird mit 100% Aceton (dreimal 500µl; jeweils etwa 15 Minuten schütteln) extrahiert. Das Lösungsmittel wird evaporiert. Carotinoide werden anschließend in 495 µl Aceton  
15 aufgenommen, 4,95 ml Kaliumphosphatpuffer (100 mM, pH7.4) zugegeben und gut gemischt. Danach erfolgt die Zugabe von ca. 17 mg Bile-Salze (Sigma) und 149 µl einer NaCl/CaCl<sub>2</sub>-Lösung (3M NaCl und 75 mM CaCl<sub>2</sub>). Die Suspension wird für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Für die enzymatische Hydrolyse der Carotinoidester wird 595 µl einer Lipaselösung (50 mg/ml Lipase Typ7 von *Candida rugosa* (Sigma)) zugegeben  
20 und unter Schütteln bei 37°C inkubiert. Nach etwa 21 Stunden erfolgte nochmals eine Zugabe von 595 µl Lipase mit erneuter Inkubation von mindestens 5 Stunden bei 37°C. Anschließend werden etwa ca. 700 mg Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in der Lösung gelöst. Nach Zugabe von 1800 µl Petrolether werden die Carotinoide durch kräftig Mischen in die organische Phase extrahiert. Dieses Ausschütteln wird solange wiederholt, bis die organische  
25 Phase farblos bleibt. Die Petroletherfraktionen werden vereinigt und der Petrolether evaporiert. Freie Carotinoide werden in 100-120 µl Aceton aufgenommen. Mittels HPLC und C30-reverse phase-Säule können freie Carotinoide aufgrund von Retentionszeit und UV-VIS-Spektren identifiziert werden.

30 Die verwendeten Bile-Salze oder Gallensäuresalze sind 1:1 Mischungen von Cholat und Desoxycholat.

b) Arbeitsvorschrift für Aufarbeitung, wenn nur geringe Mengen an Carotinoidestern im Pflanzenmaterial vorhanden sind

35

Alternativ kann die Hydrolyse der Carotinoidester durch Lipase aus *Candida rugosa* nach Trennung mittels Dünnschichtchromatographie erreicht werden. Dazu werden 50-100mg Pflanzenmaterial dreimal mit etwa 750µl Aceton extrahiert. Der Lösungsmittel-extrakt wird im Vakuum einrotiert (erhöhte Temperaturen von 40-50°C sind tolerabel).  
40 Danach erfolgt Zugabe von 300µl Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) und gute

Durchmischung. Schwebstoffe werden durch Zentrifugation (1-2 Minuten) sedimentiert. Die obere Phase wird in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Das verbleibende Rest wird erneut mit 200µl Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) extrahiert und Schwebstoffe werden durch Zentrifugation entfernt. Die beiden Extrakte werden zusammengeführt  
5 (Volumen 500µl) und die Lösungsmittel evaporiert. Der Rückstand wird in 30µl Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) resuspendiert und auf eine Dünnschichtplatte (Silica-Gel 60, Merck) aufgetragen. Falls mehr als eine Auftragung für präparativ-analytische Zwecke erforderlich ist, sollten mehrere Aliquots mit jeweils 50-100 mg Frischgewicht in der beschriebenen Weise für die dünnschichtchromatographische Trennung aufbereitet  
10 werden.

Die Dünnschichtplatte wird in Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) entwickelt. Carotinoidbanden können visuell aufgrund ihrer Farbe identifiziert werden. Einzelne Carotinoidbanden werden ausgekratzt und können für präparativ-analytische Zwecke gepoolt  
15 werden. Mit Aceton werden die Carotinoide vom Silica-Material eluiert; das Lösungsmittel wird im Vakuum evaporiert. Zur Hydrolyse der Carotinoidester wird der Rückstand in 495µl Aceton gelöst, 17mg Bile-Salze (Sigma), 4,95ml 0.1M Kaliumphosphatpuffer (pH 7,4) und 149µl (3M NaCl, 75mM CaCl<sub>2</sub>) zugegeben. Nach guter Durchmischung wird 30min bei 37°C äquilibriert. Danach erfolgt die Zugabe von 595µl Lipase  
20 von *Candida rugosa* (Sigma, Stammlösung von 50mg/ml in 5mM CaCl<sub>2</sub>). Über Nacht erfolgt die Inkubation mit Lipase unter Schütteln bei 37°C. Nach etwa 21 Stunden wird nochmals die gleiche Menge an Lipase zugegeben; für mindestens 5 Stunden wird nochmals bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Dann erfolgt die Zugabe von 700mg Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (wasserfrei); mit 1800µl Petrolether wird für ca. 1 Minute ausgeschüttelt und  
25 die Mischung bei 3500 Umdrehungen/Minute für 5 Minuten zentrifugiert. Die obere Phase wird in ein neues Reaktionsgefäß überführt und das Ausschütteln so lange wiederholt, bis die obere Phase farblos ist. Die vereinigte Petrolether-Phase wird im Vakuum eingeeengt (Temperaturen von 40-50°C sind möglich). Der Rückstand wird in 120µl Aceton, eventuell mittels Ultraschall, gelöst. Die gelösten Carotinoide können mittels  
30 HPLC unter Verwendung einer C30-Säule getrennt und anhand von Referenzsubstanzen quantifiziert werden.

#### Beispiel 16: HPLC-Analyse freier Carotinoide

35 Die Analyse der nach der Arbeitsvorschriften in Beispiel 15 erhaltenen Proben erfolgt unter folgenden Bedingungen:

Folgende HPLC-Bedingungen wurden eingestellt.

Trennsäule: Prontosil C30-Säule, 250 x 4,6 mm, (Bischoff, Leonberg, Germany)

40 Flussrate: 1.0 ml/min

Eluenten: Laufmittel A - 100% Methanol  
Laufmittel B - 80% Methanol, 0.2% Ammoniumacetat  
Laufmittel C - 100% t-Butyl-methylether  
Detektion: 300-530 nm

5

Gradientenprofil:

Zeit	Flussrate	% Laufmittel A	% Laufmittel B	% Laufmittel C
1.00	1.0	95.0	5.0	0
12.00	1.0	95.0	5.0	0
12.10	1.0	80.0	5.0	15.0
22.00	1.0	76.0	5.0	19.0
22.10	1.0	66.5	5.0	28.5
38.00	1.0	15.0	5.0	80.0
45.00	1.0	95.0	5.0	0
46.0	1.0	95.0	5.0	0

Einige typische Retentionszeiten für erfindungsgemäß gebildete Carotinoide sind z.B.:  
Violaxanthin 11, 7 min, Astaxanthin 17,7 min, Adonixanthin 19 min, Adonirubin 19,9  
min, Zeaxanthin 21 min.

10

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen, die im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-Aktivität und eine veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweisen, und die veränderte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp bereits eine Ketolase-Aktivität aufweisen, und die genetische Veränderung eine Erhöhung der Ketolase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp bewirkt.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der Ketolase-Aktivität die Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, gegenüber dem Wildtyp erhöht.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der Genexpression Nukleinsäuren in den Organismus einbringt, die Ketolasen kodieren.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, Nukleinsäuren einbringt, die eine Ketolase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 4 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 4 aufweist.
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp keine Ketolase-Aktivität aufweisen und die genetische Veränderung eine Ketolase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp verur-

sacht.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Organismen verwendet, die transgen eine Ketolase exprimieren.
- 5 8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Verursachung der Genexpression Nukleinsäuren in die Organismen einbringt, die Ketolasen kodieren.
- 10 9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren einbringt, kodierend eine Ketolase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 4 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 4 aufweist.
- 15 10. Verfahren nach Anspruch 5 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ. ID. NO. 3 einbringt.
- 20 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass man Organismen verwendet, die als Wildtyp bereits eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweisen, und die genetische Veränderung eine Erhöhung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp bewirkt.
- 25 12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der  $\beta$ -Cyclase-Aktivität die Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht.
- 30 13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der Genexpression Nukleinsäuren in den Organismus einbringt, die  $\beta$ -Cyclasen kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete
- 35 Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der

Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass man Organismen verwendet, die als Wildtyp keine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität aufweisen und die genetische Veränderung eine  $\beta$ -Cyclase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp verursacht.
15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Organismen verwendet, die transgen eine  $\beta$ -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, exprimieren.
16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Verursachung der Genexpression Nukleinsäuren in die Organismen einbringt, die  $\beta$ -Cyclasen kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
17. Verfahren nach Anspruch 13 oder 16, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ. ID. NO. 1 einbringt.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die nicht-humanen Organismen zusätzlich gegenüber dem Wildtyp eine erhöhte oder verursachte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.
19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass man zur zusätzlichen Erhöhung oder Verursachung der Hydroxylase-Aktivität, die Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase gegenüber dem Wildtyp erhöht oder verursacht.
20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung oder Verursachung der Genexpression eine Nukleinsäure kodierend eine Hydroxy-

lase in den Organismus einbringt.

21. Verfahren nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure, kodierend eine Hydroxylase, Nukleinsäuren einbringt, die eine Hydroxylase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 6 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 6 aufweist.
22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 5 einbringt.
23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Organismen zusätzlich gegenüber dem Wildtyp eine erhöhte oder verursachte Aktivität mindestens einer der Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und MinD-Aktivität aufweisen.
24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass man zur zusätzlichen Erhöhung oder Verursachung mindestens einer der Aktivitäten, die Genexpression mindestens einer Nukleinsäure ausgewählt aus der Gruppe, Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäu-

ren kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und Nukleinsäuren kodierend ein MinD Protein gegenüber dem Wildtyp erhöht.

25. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung  
5 oder Verursachung der Genexpression mindestens einer der Nukleinsäuren, mindestens eine Nukleinsäure ausgewählt aus der Gruppe, Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-  
10 5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-  
15 Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und Nukleinsäuren kodierend ein MinD Protein in die nicht-humanen Organismen einbringt.
- 20 26. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren einbringt die eine HMG-CoA-Reduktase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 8 aufweist.  
25
27. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 7 einbringt.
- 30 28. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren einbringt die eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 10, oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion  
35 oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von min-



destens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 10 aufweist.

29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 9 einbringt.
- 5
30. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 12 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 12 aufweist.
- 10
31. Verfahren nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 11 einbringt.
- 15
32. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren einbringt die eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 14 aufweist.
- 20
33. Verfahren nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 13 einbringt.
- 25
34. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase, Nukleinsäuren einbringt die eine Isopentenyl-Diphosphat- $\Delta$ -Isomerase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 16 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 16 aufweist.
- 30

35. Verfahren nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 15 einbringt.
36. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure  
5 kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Geranyl-Diphosphat-Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 18 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 18 aufweist.
37. Verfahren nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 17 einbringt.
38. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure  
15 kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 20 aufweist.
39. Verfahren nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 19 einbringt.
40. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure  
25 kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 22 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 22 aufweist.
41. Verfahren nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 21 einbringt.
42. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure  
35 kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Phytoen-

Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 24 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 24 aufweist.

5

43. Verfahren nach Anspruch 42, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 23 einbringt.

10

44. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren einbringt die eine Phytoen-Desaturase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 26 aufweist.

15

45. Verfahren nach Anspruch 44, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 25 einbringt.

20

46. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren einbringt die eine Zeta-Carotin-Desaturase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 28 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 28 aufweist.

25

47. Verfahren nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 27 einbringt.

30

48. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren einbringt die ein crtISO Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 30 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 30 aufweist.

35

49. Verfahren nach Anspruch 48, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 29 einbringt.
50. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure  
5 kodierend ein FtsZ Protein, Nukleinsäuren einbringt die ein FtsZ Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 32 aufweist.
51. Verfahren nach Anspruch 50, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 31 einbringt.
52. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure  
15 kodierend ein MinD Protein, Nukleinsäuren einbringt die ein MinD Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 34 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 34 aufweist.
53. Verfahren nach Anspruch 52, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 33 einbringt.
54. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 53, dadurch gekennzeichnet, dass man  
25 nach dem Kultivieren die genetisch veränderten Organismen erntet und anschließend die Ketocarotinoide aus den Organismen isoliert.
55. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 54, dadurch gekennzeichnet, dass man  
30 als Organismus einen Organismus verwendet, der als Ausgangsorganismus natürlicherweise oder durch genetische Komplementierung oder Umregulierung von Stoffwechselwegen in der Lage ist, Carotinoide herzustellen.
56. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 55, dadurch gekennzeichnet, dass man  
35 als Organismen Mikroorganismen oder Pflanzen verwendet.

57. Verfahren nach Anspruch 56, dadurch gekennzeichnet, dass man als Mikroorganismen Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze verwendet.
58. Verfahren nach Anspruch 57, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroorganismen ausgewählt sind aus der Gruppe *Escherichia*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Nostoc*, Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Phaffia*, *Pichia*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, *Phycomyces*, *Fusarium*, *Haematococcus*, *Phaedactylum tricornatum*, *Volvox* oder *Dunaliella*.
59. Verfahren nach Anspruch 56, dadurch gekennzeichnet, dass man als Organismen Pflanzen verwendet.
60. Verfahren nach Anspruch 59, dadurch gekennzeichnet, dass man als Pflanze eine Pflanze, ausgewählt aus den Familien *Amaranthaceae*, *Amaryllidaceae*, *Apocynaceae*, *Asteraceae*, *Balsaminaceae*, *Begoniaceae*, *Berberidaceae*, *Brassicaceae*, *Cannabaceae*, *Caprifoliaceae*, *Caryophyllaceae*, *Chenopodiaceae*, *Compositae*, *Cucurbitaceae*, *Cruciferae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Gentianaceae*, *Geraniaceae*, *Graminae*, *Illiciaceae*, *Labiatae*, *Lamiaceae*, *Leguminosae*, *Liliaceae*, *Linaceae*, *Lobeliaceae*, *Malvaceae*, *Oleaceae*, *Orchidaceae*, *Papaveraceae*, *Plumbaginaceae*, *Poaceae*, *Polemoniaceae*, *Primulaceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, *Tropaeolaceae*, *Umbelliferae*, *Verbanaceae*, *Vitaceae* oder *Violaceae* verwendet.
61. Verfahren nach Anspruch 60, dadurch gekennzeichnet, dass man als Pflanze eine Pflanze, ausgewählt aus den Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Arnica*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*, *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcubita*, *Cytisus*, *Delonia*, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschscholtzia*, *Forsythia*, *Fremontia*, *Gazania*, *Gelsemium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Grevillea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hibiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*, *Hypochoeris*, *Impatiens*, *Iris*, *Jacaranda*, *Kerria*, *Laburnum*, *Lathyrus*, *Leontodon*, *Lilium*, *Linum*, *Lotus*, *Lycopersicon*, *Lysimachia*, *Marattia*, *Medicago*, *Mimulus*, *Narcissus*, *Oenothera*, *Osmanthus*, *Petunia*, *Photinia*, *Physalis*, *Phyteuma*, *Potentilla*, *Pyracantha*, *Ra-*

nunculus, Rhododendron, Rosa, Rudbeckia, Senecio, Silene, Silphium, Sinapsis, Sorbus, Spartium, Tecoma, Torenia, Tragopogon, Trollius, Tropaeolum, Tulipa, Tussilago, Ulex, Viola oder Zinnia verwendet.

- 5 62. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 61, dadurch gekennzeichnet, dass die Ketocarotinoide ausgewählt sind aus der Gruppe Astaxanthin, Canthaxanthin, E-chinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin.
- 10 63. Genetisch veränderter, nicht-humaner Organismus, wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer Ketolase
- 15 A für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und
- B für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht,
- und wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer  $\beta$ -Cyclase
- 20 C für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine  $\beta$ -Cyclase -Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und
- D für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine  $\beta$ -Cyclase -Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht
- 25 und die nach C erhöhte oder nach D verursachte  $\beta$ -Cyclase-Aktivität durch eine  $\beta$ -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
- 30 64. Genetisch veränderter Organismus nach Anspruch 63, dadurch gekennzeichnet dass er als Ausgangsorganismus natürlicherweise oder durch genetische Kom-

plementierung in der Lage ist, Carotinoide herzustellen.

65. Genetisch veränderter Organismus nach Anspruch 63 oder 64, ausgewählt aus der Gruppe Mikroorganismen oder Pflanzen.
- 5
66. Genetisch veränderter Mikroorganismus nach Anspruch 65, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroorganismen ausgewählt sind aus der Gruppe Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze.
- 10
67. Genetisch veränderter Mikroorganismus nach Anspruch 66, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroorganismen ausgewählt sind aus der Gruppe *Escherichia*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Nostoc*, Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, *Phycomyces*, *Fusarium*, *Haematococcus*, *Phaedactylum tricornatum*, *Volvox* oder *Dunaliella*.
- 15
68. Genetisch veränderte Pflanze nach Anspruch 65, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzen ausgewählt sind aus den Familien Amaranthaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Begoniaceae, Berberidaceae, Brassicaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Geraniaceae, Graminae, Illiaceae, Labiatae, Lamiaceae, Leguminosae, Liliaceae, Linaceae, Lobeliaceae, Malvaceae, Oleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae, Umbelliferae, Verbanaceae, Vitaceae und Violaceae verwendet.
- 20
69. Genetisch veränderte Pflanze nach Anspruch 68, dadurch gekennzeichnet, dass Pflanzen ausgewählt sind aus den Pflanzengattungen. Marigold, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Arnica*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*, *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcubita*, *Cytisus*, *Delonia*, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschscholtzia*, *Forsythia*, *Fremontia*, *Gazania*, *Gelsemium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Grevillea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hisbiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*, *Hypochoeris*,
- 25
- 30
- 35

Impatiens, Iris, Jacaranda, Kerria, Laburnum, Lathyrus, Leontodon, Lilium, Linum, Lotus, Lycopersicon, Lysimachia, Maratia, Medicago, Mimulus, Narcissus, Oenothera, Osmanthus, Petunia, Photinia, Physalis, Phyteuma, Potentilla, Pyracantha, Ranunculus, Rhododendron, Rosa, Rudbeckia, Senecio, Silene, Silphium, Sinapsis, Sorbus, Spartium, Tecoma, Torenia, Tragopogon, Trollius, Tropaeolum, Tulipa, Tussilago, Ulex, Viola oder Zinnia verwendet.

70. Verwendung der genetisch veränderten Organismen nach einem der Ansprüche 63 bis 69 als Futter- oder Nahrungsmittel.

10

71. Verwendung der genetisch veränderten Organismen nach einem der Ansprüche 63 bis 69 zur Herstellung von Ketocarotinoid-haltigen Extrakten oder zur Herstellung von Futter- und Nahrungsergänzungsmittel.

15



## SEQUENCE LISTING

<110> SunGene GmbH & Co. KGaA

<120> Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden in genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen

<130> PF 55340

<160> 131

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1666

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1494)

<223>

<400> 1

atg gaa gct ctt ctc aag cct ttt cca tct ctt tta ctt tcc tct cct 48  
Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Leu Ser Ser Pro  
1 5 10 15

aca ccc cat agg tct att ttc caa caa aat ccc tct ttt cta agt ccc 96  
Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser Pro  
20 25 30

acc acc aaa aaa aaa tca aga aaa tgt ctt ctt aga aac aaa agt agt	144
Thr Thr Lys Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser Ser	
35 40 45	
aaa ctt ttt tgt agc ttt ctt gat tta gca ccc aca tca aag cca gag	192
Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro Glu	
50 55 60	
tct tta gat gtt aac atc tca tgg gtt gat cct aat tcg aat cgg gct	240
Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg Ala	
65 70 75 80	
caa ttc gac gtg atc att atc gga gct ggc cct gct ggg ctc agg cta	288
Gln Phe Asp Val Ile Ile Ile Gly Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg Leu	
85 90 95	
gct gaa caa gtt tct aaa tat ggt att aag gta tgt tgt gtt gac cct	336
Ala Glu Gln Val Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Val Cys Cys Val Asp Pro	
100 105 110	
tca cca ctc tcc atg tgg cca aat aat tat ggt gtt tgg gtt gat gag	384
Ser Pro Leu Ser Met Trp Pro Asn Asn Tyr Gly Val Trp Val Asp Glu	
115 120 125	
ttt gag aat tta gga ctg gaa aat tgt tta gat cat aaa tgg cct atg	432
Phe Glu Asn Leu Gly Leu Glu Asn Cys Leu Asp His Lys Trp Pro Met	
130 135 140	
act tgt gtg cat ata aat gat aac aaa act aag tat ttg gga aga cca	480
Thr Cys Val His Ile Asn Asp Asn Lys Thr Lys Tyr Leu Gly Arg Pro	
145 150 155 160	
tat ggt aga gtt agt aga aag aag ctg aag ttg aaa ttg ttg aat agt	528
Tyr Gly Arg Val Ser Arg Lys Lys Leu Lys Leu Lys Leu Asn Ser	
165 170 175	
tgt gtt gag aac aga gtg aag ttt tat aaa gct aag gtt tgg aaa gtg	576
Cys Val Glu Asn Arg Val Lys Phe Tyr Lys Ala Lys Val Trp Lys Val	
180 185 190	
gaa cat gaa gaa ttt gag tct tca att gtt tgt gat gat ggt aag aag	624
Glu His Glu Glu Phe Glu Ser Ser Ile Val Cys Asp Asp Gly Lys Lys	
195 200 205	
ata aga ggt agt ttg gtt gtg gat gca agt ggt ttt gct agt gat ttt	672
Ile Arg Gly Ser Leu Val Val Asp Ala Ser Gly Phe Ala Ser Asp Phe	
210 215 220	
ata gag tat gac agg cca aga aac cat ggt tat caa att gct cat ggg	720
Ile Glu Tyr Asp Arg Pro Arg Asn His Gly Tyr Gln Ile Ala His Gly	
225 230 235 240	

gtt tta gta gaa gtt gat aat cat cca ttt gat ttg gat aaa atg gtg	768
Val Leu Val Glu Val Asp Asn His Pro Phe Asp Leu Asp Lys Met Val	
245 250 255	
ctt atg gat tgg agg gat tct cat ttg ggt aat gag cca tat tta agg	816
Leu Met Asp Trp Arg Asp Ser His Leu Gly Asn Glu Pro Tyr Leu Arg	
260 265 270	
gtg aat aat gct aaa gaa cca aca ttc ttg tat gca atg cca ttt gat	864
Val Asn Asn Ala Lys Glu Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro Phe Asp	
275 280 285	
aga gat ttg gtt ttc ttg gaa gag act tct ttg gtg agt cgt cct gtt	912
Arg Asp Leu Val Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ser Arg Pro Val	
290 295 300	
tta tcg tat atg gaa gta aaa aga agg atg gtg gca aga tta agg cat	960
Leu Ser Tyr Met Glu Val Lys Arg Arg Met Val Ala Arg Leu Arg His	
305 310 315 320	
ttg ggg atc aaa gtg aaa agt gtt att gag gaa gag aaa tgt gtg atc	1008
Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Glu Lys Cys Val Ile	
325 330 335	
cct atg gga gga cca ctt ccg cgg att cct caa aat gtt atg gct att	1056
Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Arg Ile Pro Gln Asn Val Met Ala Ile	
340 345 350	
ggg ggg aat tca ggg ata gtt cat cca tca aca ggg tac atg gtg gct	1104
Gly Gly Asn Ser Gly Ile Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met Val Ala	
355 360 365	
agg agc atg gct tta gca cca gta cta gct gaa gcc atc gtc gag ggg	1152
Arg Ser Met Ala Leu Ala Pro Val Leu Ala Glu Ala Ile Val Glu Gly	
370 375 380	
ctt ggc tca aca aga atg ata aga ggg tct caa ctt tac cat aga gtt	1200
Leu Gly Ser Thr Arg Met Ile Arg Gly Ser Gln Leu Tyr His Arg Val	
385 390 395 400	
tgg aat ggt ttg tgg cct ttg gat aga aga tgt gtt aga gaa tgt tat	1248
Trp Asn Gly Leu Trp Pro Leu Asp Arg Arg Cys Val Arg Glu Cys Tyr	
405 410 415	
tca ttt ggg atg gag aca ttg ttg aag ctt gat ttg aaa ggg act agg	1296
Ser Phe Gly Met Glu Thr Leu Leu Lys Leu Asp Leu Lys Gly Thr Arg	
420 425 430	
aga ttg ttt gac gct ttc ttt gat ctt gat cct aaa tac tgg caa ggg	1344
Arg Leu Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Asp Pro Lys Tyr Trp Gln Gly	
435 440 445	

ttc ctt tct tca aga ttg tct gtc aaa gaa ctt ggt tta ctc agc ttg 1392  
 Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser Leu  
 450 455 460

tgt ctt ttc gga cat ggc tca aac atg act agg ttg gat att gtt aca 1440  
 Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val Thr  
 465 470 475 480

aaa tgt gct ctt cct ttg gtt aga ctg att ggc aat cta gca ata gag 1488  
 Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile Glu  
 485 490 495

agc ctt tgaatgtgaa aagtttgaat cattttcttc attttaattt ctttgattat 1544  
 Ser Leu

tttcatatatt tctcaattgc aaaagtgaga taagagctac atactgtcaa caaataaact 1604

actattggaa agttaaaata tgtgtttgtt gtatgttatt ctaatggaat ggattttgta 1664

aa 1666

<210> 2

<211> 498

<212> PRT

<213> Lycopersicon esculentum

<400> 2

Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Leu Ser Ser Pro  
 1 5 10 15

Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser Pro  
 20 25 30

Thr Thr Lys Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser Ser  
 35 40 45

Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro Glu  
 50 55 60

Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg Ala

65	70	75	80
Gln Phe Asp Val Ile Ile Ile Gly Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg Leu			
	85	90	95
Ala Glu Gln Val Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Val Cys Cys Val Asp Pro			
	100	105	110
Ser Pro Leu Ser Met Trp Pro Asn Asn Tyr Gly Val Trp Val Asp Glu			
	115	120	125
Phe Glu Asn Leu Gly Leu Glu Asn Cys Leu Asp His Lys Trp Pro Met			
	130	135	140
Thr Cys Val His Ile Asn Asp Asn Lys Thr Lys Tyr Leu Gly Arg Pro			
	145	150	155
			160
Tyr Gly Arg Val Ser Arg Lys Lys Leu Lys Leu Lys Leu Leu Asn Ser			
	165	170	175
Cys Val Glu Asn Arg Val Lys Phe Tyr Lys Ala Lys Val Trp Lys Val			
	180	185	190
Glu His Glu Glu Phe Glu Ser Ser Ile Val Cys Asp Asp Gly Lys Lys			
	195	200	205
Ile Arg Gly Ser Leu Val Val Asp Ala Ser Gly Phe Ala Ser Asp Phe			
	210	215	220
Ile Glu Tyr Asp Arg Pro Arg Asn His Gly Tyr Gln Ile Ala His Gly			
	225	230	235
			240
Val Leu Val Glu Val Asp Asn His Pro Phe Asp Leu Asp Lys Met Val			
	245	250	255
Leu Met Asp Trp Arg Asp Ser His Leu Gly Asn Glu Pro Tyr Leu Arg			
	260	265	270
Val Asn Asn Ala Lys Glu Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro Phe Asp			

275

280

285

Arg Asp Leu Val Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ser Arg Pro Val  
290 295 300

Leu Ser Tyr Met Glu Val Lys Arg Arg Met Val Ala Arg Leu Arg His  
305 310 315 320

Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Glu Lys Cys Val Ile  
325 330 335

Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Arg Ile Pro Gln Asn Val Met Ala Ile  
340 345 350

Gly Gly Asn Ser Gly Ile Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met Val Ala  
355 360 365

Arg Ser Met Ala Leu Ala Pro Val Leu Ala Glu Ala Ile Val Glu Gly  
370 375 380

Leu Gly Ser Thr Arg Met Ile Arg Gly Ser Gln Leu Tyr His Arg Val  
385 390 395 400

Trp Asn Gly Leu Trp Pro Leu Asp Arg Arg Cys Val Arg Glu Cys Tyr  
405 410 415

Ser Phe Gly Met Glu Thr Leu Leu Lys Leu Asp Leu Lys Gly Thr Arg  
420 425 430

Arg Leu Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Asp Pro Lys Tyr Trp Gln Gly  
435 440 445

Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser Leu  
450 455 460

Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val Thr  
465 470 475 480

Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile Glu

485

490

495

Ser Leu

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 1771

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Haematococcus pluvialis

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (166)..(1155)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 3

ggcacgagct tgcacgcaag tcagcgcgcg caagtcaaca cctgccgggc cacagcctca 60

aataataaag agctcaagcg tttgtgcgcc tcgacgtggc cagtctgcac tgccttgaac 120

ccgcgagtct cccgccgcac tgactgccat agcacagcta gacga atg cag cta gca 177  
Met Gln Leu Ala  
1gcg aca gta atg ttg gag cag ctt acc gga agc gct gag gca ctc aag 225  
Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser Ala Glu Ala Leu Lys  
5 10 15 20gag aag gag aag gag gtt gca ggc agc tct gac gtg ttg cgt aca tgg 273  
Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val Leu Arg Thr Trp  
25 30 35gcg acc cag tac tcg ctt ccg tca gaa gag tca gac gcg gcc cgc ccg 321  
Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp Ala Ala Arg Pro  
40 45 50gga ctg aag aat gcc tac aag cca cca cct tcc gac aca aag ggc atc 369  
Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp Thr Lys Gly Ile  
55 60 65

aca atg gcg cta cgt gtc atc ggc tcc tgg gcc gca gtg ttc ctc cac 417  
 Thr Met Ala Leu Arg Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala Val Phe Leu His  
 70 75 80

gcc att ttt caa atc aag ctt ccg acc tcc ttg gac cag ctg cac tgg 465  
 Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp Gln Leu His Trp  
 85 90 95 100

ctg ccc gtg tca gat gcc aca gct cag ctg gtt agc ggc acg agc agc 513  
 Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser Gly Thr Ser Ser  
 105 110 115

ctg ctc gac atc gtc gta gta ttc ttt gtc ctg gag ttc ctg tac aca 561  
 Leu Leu Asp Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr  
 120 125 130

ggc ctt ttt atc acc acg cat gat gct atg cat ggc acc atc gcc atg 609  
 Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Met  
 135 140 145

aga aac agg cag ctt aat gac ttc ttg ggc aga gta tgc atc tcc ttg 657  
 Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val Cys Ile Ser Leu  
 150 155 160

tac gcc tgg ttt gat tac aac atg ctg cac cgc aag cat tgg gag cac 705  
 Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys His Trp Glu His  
 165 170 175 180

cac aac cac act ggc gag gtg ggc aag gac cct gac ttc cac agg gga 753  
 His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp Phe His Arg Gly  
 185 190 195

aac cct ggc att gtg ccc tgg ttt gcc agc ttc atg tcc agc tac atg 801  
 Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met  
 200 205 210

tcg atg tgg cag ttt gcg cgc ctc gca tgg tgg acg gtg gtc atg cag 849  
 Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr Val Val Met Gln  
 215 220 225

ctg ctg ggt gcg cca atg gcg aac ctg ctg gtg ttc atg gcg gcc gcg 897  
 Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala  
 230 235 240

ccc atc ctg tcc gcc ttc cgc ttg ttc tac ttt ggc acg tac atg ccc 945  
 Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Met Pro  
 245 250 255 260

cac aag cct gag cct ggc gcc gcg tca ggc tct tca cca gcc gtc atg 993  
 His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser Pro Ala Val Met  
 265 270 275



aac tgg tgg aag tgc cgc act agc cag gcg tcc gac ctg gtc agc ttt 1041  
 Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp Leu Val Ser Phe  
 280 285 290

ctg acc tgc tac cac ttc gac ctg cac tgg gag cac cac cgc tgg ccc 1089  
 Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His His Arg Trp Pro  
 295 300 305

ttc gcc ccc tgg tgg gag ctg ccc aac tgc cgc cgc ctg tct ggc cga 1137  
 Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg  
 310 315 320

ggt ctg gtt cct gcc tag ctggacacac tgcagtgggc cctgctgcca 1185  
 Gly Leu Val Pro Ala  
 325

gctgggcatg caggttgtgg caggactggg tgaggtgaaa agctgcaggc gctgctgccg 1245

gacacgctgc atgggctacc ctgtgtagct gccgccacta ggggaggggg tttgtagctg 1305

tcgagcttgc cccatggatg aagctgtgta gtggtgcagg gactacaccc acaggccaac 1365

acccttgcag gagatgtctt gcgtcgggag gagtgttggg cagtgtagat gctatgattg 1425

tatcttaatg ctgaagcctt taggggagcg acacttagtg ctgggcaggc aacgccctgc 1485

aaggtgcagg cacaagctag gctggacgag gactcgggtg caggcagggtg aagaggtgcg 1545

ggaggtggt gccacaccca ctgggcaaga ccatgctgca atgctggcgg tgtggcagtg 1605

agagctgcgt gattaactgg gctatggatt gtttgagcag tctcacttat tctttgatat 1665

agatactggt caggcagggtc aggagagtga gtatgaacaa gttgagaggt ggtgcgctgc 1725

ccctgcgctt atgaagctgt aacaataaag tgggtcaaaa aaaaaa 1771

<210> 4

<211> 329

<212> PRT

<213> Haematococcus pluvialis

<400> 4

Met Gln Leu Ala Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser Ala  
 1 5 10 15

Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val  
                   20                                  25                                  30

Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp  
           35                                  40                                  45

Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp  
       50                                  55                                  60

Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Arg Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala  
   65                                  70                                  75                                  80

Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp  
                                   85                                  90                                  95

Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser  
                                   100                                  105                                  110

Gly Thr Ser Ser Leu Leu Asp Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu Glu  
           115                                  120                                  125

Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His Gly  
       130                                  135                                  140

Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val  
   145                                  150                                  155                                  160

Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys  
                                   165                                  170                                  175

His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp  
           180                                  185                                  190

Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met  
           195                                  200                                  205

Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr  
       210                                  215                                  220

Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe  
 225 230 235 240

Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly  
 245 250 255

Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser  
 260 265 270

Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp  
 275 280 285

Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His  
 290 295 300

His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg  
 305 310 315 320

Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala  
 325

<210> 5

<211> 1163

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(942)

<223>

<400> 5

att cgg cac gag att tca gcc tcc gct agt tcc cga acc att cgc etc  
 ile Arg His Glu ile Ser Ala Ser Ala Ser Ser Arg Thr ile Arg Leu



210	215	220	
ttc ggc gct gga ttg ggg atc aca gta ttt ggg atg gct tac atg ttc			720
Phe Gly Ala Gly Leu Gly Ile Thr Val Phe Gly Met Ala Tyr Met Phe			
225	230	235	240
ggt cac gat gga ctg gtt cat aag aga ttt ccc gta ggg cct att gcc			768
Val His Asp Gly Leu Val His Lys Arg Phe Pro Val Gly Pro Ile Ala			
245	250	255	
aac gtg cct tac ttt cgg agg gta gct gca gca cat cag ctt cat cac			816
Asn Val Pro Tyr Phe Arg Arg Val Ala Ala Ala His Gln Leu His His			
260	265	270	
tcg gac aaa ttt gat ggt gtc cca tat ggc ttg ttt cta gga cct aag			864
Ser Asp Lys Phe Asp Gly Val Pro Tyr Gly Leu Phe Leu Gly Pro Lys			
275	280	285	
gaa ttg gaa gaa gta gga gga ctt gaa gag tta gaa aag gaa gtc aac			912
Glu Leu Glu Glu Val Gly Gly Leu Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val Asn			
290	295	300	
cga agg att aaa att tct aag gga tta tta tgatcaaaag atacgtctga			962
Arg Arg Ile Lys Ile Ser Lys Gly Leu Leu			
305	310		
taataataaaa atgcgattgt atttaggctg tagattatta ttgggaaaaa gatagaaaga			1022
tatatatatg aatataatat aaaatgcaac aagctttcta tggagaagac cttttctttt			1082
ttggtacctg tacgtaaaaag gtgaacaatt tgatgtccta gtacttggtg acaaaccaga			1142
agaacgataa ttcaaaacaa a			1163

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 314

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Lycopersicon esculentum

&lt;400&gt; 6

Ile Arg His Glu Ile Ser Ala Ser Ala Ser Ser Arg Thr Ile Arg Leu
1 5 10 15

Arg His Asn Pro Phe Leu Ser Pro Lys Ser Ala Ser Thr Ala Pro Pro

20

25

30

Val Leu Phe Phe Ser Pro Leu Thr Arg Asn Phe Gly Ala Ile Leu Leu  
 35 40 45

Ser Arg Arg Lys Pro Arg Leu Ala Val Cys Phe Val Leu Glu Asn Glu  
 50 55 60

Lys Leu Asn Ser Thr Ile Glu Ser Glu Ser Glu Val Ile Glu Asp Arg  
 65 70 75 80

Ile Gln Val Glu Ile Asn Glu Glu Lys Ser Leu Ala Ala Ser Trp Leu  
 85 90 95

Ala Glu Lys Leu Ala Arg Lys Lys Ser Glu Arg Phe Thr Tyr Leu Val  
 100 105 110

Ala Ala Val Met Ser Ser Leu Gly Ile Thr Ser Met Ala Ile Leu Ala  
 115 120 125

Val Tyr Tyr Arg Phe Ser Trp Gln Met Glu Gly Gly Glu Val Pro Phe  
 130 135 140

Ser Glu Met Leu Ala Thr Phe Thr Leu Ser Phe Gly Ala Ala Val Gly  
 145 150 155 160

Met Glu Tyr Trp Ala Arg Trp Ala His Arg Ala Leu Trp His Ala Ser  
 165 170 175

Leu Trp His Met His Glu Ser His His Arg Pro Arg Glu Gly Pro Phe  
 180 185 190

Glu Met Asn Asp Val Phe Ala Ile Thr Asn Ala Val Pro Ala Ile Gly  
 195 200 205

Leu Leu Ser Tyr Gly Phe Phe His Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu Cys  
 210 215 220

Phe Gly Ala Gly Leu Gly Ile Thr Val Phe Gly Met Ala Tyr Met Phe

225                                      230                                      235                                      240  
 Val His Asp Gly Leu Val His Lys Arg Phe Pro Val Gly Pro Ile Ala  
    245                                      250                                      255  
 Asn Val Pro Tyr Phe Arg Arg Val Ala Ala Ala His Gln Leu His His  
    260                                      265                                      270  
 Ser Asp Lys Phe Asp Gly Val Pro Tyr Gly Leu Phe Leu Gly Pro Lys  
    275                                      280                                      285  
 Glu Leu Glu Glu Val Gly Gly Leu Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val Asn  
    290                                      295                                      300  
 Arg Arg Ile Lys Ile Ser Lys Gly Leu Leu  
 305                                      310

<210> 7

<211> 1779

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1779)

<223>

<400> 7

atg gat ctc cgt cgg agg cct cct aaa cca ccg gtt acc aac aac aac                      48  
 Met Asp Leu Arg Arg Arg Pro Pro Lys Pro Pro Val Thr Asn Asn Asn  
 1                                      5                                      10                                      15  
 aac tcc aac gga tct ttc cgt tct tat cag cct cgc act tcc gat gac                      96  
 Asn Ser Asn Gly Ser Phe Arg Ser Tyr Gln Pro Arg Thr Ser Asp Asp  
    20                                      25                                      30

gat cat cgt cgc cgg gct aca aca att gct cct cca ccg aaa gca tcc	144
Asp His Arg Arg Arg Ala Thr Thr Ile Ala Pro Pro Pro Lys Ala Ser	
35 40 45	
gac gcg ctt cct ctt ccg tta tat ctc aca aac gcc gtt ttc ttc acg	192
Asp Ala Leu Pro Leu Pro Leu Tyr Leu Thr Asn Ala Val Phe Phe Thr	
50 55 60	
ctc ttc ttc tcc gtc gcg tat tac ctc ctc cac cgg tgg cgt gac aag	240
Leu Phe Phe Ser Val Ala Tyr Tyr Leu Leu His Arg Trp Arg Asp Lys	
65 70 75 80	
atc cgt tac aat acg cct ctt cac gtc gtc act atc aca gaa ctc ggc	288
Ile Arg Tyr Asn Thr Pro Leu His Val Val Thr Ile Thr Glu Leu Gly	
85 90 95	
gcc att att gct ctc atc gct tcg ttt atc tat ctc cta ggg ttt ttt	336
Ala Ile Ile Ala Leu Ile Ala Ser Phe Ile Tyr Leu Leu Gly Phe Phe	
100 105 110	
ggc att gac ttt gtt cag tca ttt atc tca cgt gcc tct ggt gat gct	384
Gly Ile Asp Phe Val Gln Ser Phe Ile Ser Arg Ala Ser Gly Asp Ala	
115 120 125	
tgg gat ctc gcc gat acg atc gat gat gat gac cac cgc ctt gtc acg	432
Trp Asp Leu Ala Asp Thr Ile Asp Asp Asp Asp His Arg Leu Val Thr	
130 135 140	
tgc tct cca ccg act ccg atc gtt tcc gtt gct aaa tta cct aat ccg	480
Cys Ser Pro Pro Thr Pro Ile Val Ser Val Ala Lys Leu Pro Asn Pro	
145 150 155 160	
gaa cct att gtt acc gaa tcg ctt cct gag gaa gac gag gag att gtg	528
Glu Pro Ile Val Thr Glu Ser Leu Pro Glu Glu Asp Glu Glu Ile Val	
165 170 175	
aaa tcg gtt atc gac gga gtt att cca tcg tac tcg ctt gaa tct cgt	576
Lys Ser Val Ile Asp Gly Val Ile Pro Ser Tyr Ser Leu Glu Ser Arg	
180 185 190	
ctc ggt gat tgc aaa aga gcg gcg tcg att cgt cgt gag gcg ttg cag	624
Leu Gly Asp Cys Lys Arg Ala Ala Ser Ile Arg Arg Glu Ala Leu Gln	
195 200 205	
aga gtc acc ggg aga tcg att gaa ggg tta ccg ttg gat gga ttt gat	672
Arg Val Thr Gly Arg Ser Ile Glu Gly Leu Pro Leu Asp Gly Phe Asp	
210 215 220	
tat gaa tcg att ttg ggg caa tgc tgt gag atg cct gtt gga tac att	720
Tyr Glu Ser Ile Leu Gly Gln Cys Cys Glu Met Pro Val Gly Tyr Ile	
225 230 235 240	



cag att cct gtt ggg att gct ggt cca ttg ttg ctt gat ggt tat gag	768
Gln Ile Pro Val Gly Ile Ala Gly Pro Leu Leu Leu Asp Gly Tyr Glu	
245 250 255	
tac tct gtt cct atg gct aca acc gaa ggt tgt ttg gtt gct agc act	816
Tyr Ser Val Pro Met Ala Thr Thr Glu Gly Cys Leu Val Ala Ser Thr	
260 265 270	
aac aga ggc tgc aag gct atg ttt atc tct ggt ggc gcc acc agt acc	864
Asn Arg Gly Cys Lys Ala Met Phe Ile Ser Gly Gly Ala Thr Ser Thr	
275 280 285	
gtt ctt aag gac ggt atg acc cga gca cct gtt gtt cgg ttc gct tcg	912
Val Leu Lys Asp Gly Met Thr Arg Ala Pro Val Val Arg Phe Ala Ser	
290 295 300	
gcg aga cga gct tcg gag ctt aag ttt ttc ttg gag aat cca gag aac	960
Ala Arg Arg Ala Ser Glu Leu Lys Phe Phe Leu Glu Asn Pro Glu Asn	
305 310 315 320	
ttt gat act ttg gca gta gtc ttc aac agg tcg agt aga ttt gca aga	1008
Phe Asp Thr Leu Ala Val Val Phe Asn Arg Ser Ser Arg Phe Ala Arg	
325 330 335	
ctg caa agt gtt aaa tgc aca atc gcg ggg aag aat gct tat gta agg	1056
Leu Gln Ser Val Lys Cys Thr Ile Ala Gly Lys Asn Ala Tyr Val Arg	
340 345 350	
ttc tgt tgt agt act ggt gat gct atg ggg atg aat atg gtt tct aaa	1104
Phe Cys Cys Ser Thr Gly Asp Ala Met Gly Met Asn Met Val Ser Lys	
355 360 365	
ggt gtg cag aat gtt ctt gag tat ctt acc gat gat ttc cct gac atg	1152
Gly Val Gln Asn Val Leu Glu Tyr Leu Thr Asp Asp Phe Pro Asp Met	
370 375 380	
gat gtg att gga atc tct ggt aac ttc tgt tcg gac aag aaa cct gct	1200
Asp Val Ile Gly Ile Ser Gly Asn Phe Cys Ser Asp Lys Lys Pro Ala	
385 390 395 400	
gct gtg aac tgg att gag gga cgt ggt aaa tca gtt gtt tgc gag gct	1248
Ala Val Asn Trp Ile Glu Gly Arg Gly Lys Ser Val Val Cys Glu Ala	
405 410 415	
gta atc aga gga gag atc gtg aac aag gtc ttg aaa acg agc gtg gct	1296
Val Ile Arg Gly Glu Ile Val Asn Lys Val Leu Lys Thr Ser Val Ala	
420 425 430	
gct tta gtc gag ctc aac atg ctc aag aac cta gct ggc tct gct gtt	1344
Ala Leu Val Glu Leu Asn Met Leu Lys Asn Leu Ala Gly Ser Ala Val	
435 440 445	

gca ggc tct cta ggt gga ttc aac gct cat gcc agt aac ata gtg tct 1392  
 Ala Gly Ser Leu Gly Gly Phe Asn Ala His Ala Ser Asn Ile Val Ser  
 450 455 460

gct gta ttc ata gct act ggc caa gat cca gct caa aac gtg gag agt 1440  
 Ala Val Phe Ile Ala Thr Gly Gln Asp Pro Ala Gln Asn Val Glu Ser  
 465 470 475 480

tct caa tgc atc acc atg atg gaa gct att aat gac ggc aaa gat atc 1488  
 Ser Gln Cys Ile Thr Met Met Glu Ala Ile Asn Asp Gly Lys Asp Ile  
 485 490 495

cat atc tca gtc act atg cca tct atc gag gtg ggg aca gtg gga gga 1536  
 His Ile Ser Val Thr Met Pro Ser Ile Glu Val Gly Thr Val Gly Gly  
 500 505 510

gga aca cag ctt gca tct caa tca gcg tgt tta aac ctg ctc gga gtt 1584  
 Gly Thr Gln Leu Ala Ser Gln Ser Ala Cys Leu Asn Leu Leu Gly Val  
 515 520 525

aaa gga gca agc aca gag tcg ccg gga atg aac gca agg agg cta gcg 1632  
 Lys Gly Ala Ser Thr Glu Ser Pro Gly Met Asn Ala Arg Arg Leu Ala  
 530 535 540

acg atc gta gcc gga gca gtt tta gct gga gag tta tct tta atg tca 1680  
 Thr Ile Val Ala Gly Ala Val Leu Ala Gly Glu Leu Ser Leu Met Ser  
 545 550 555 560

gca att gca gct gga cag ctt gtg aga agt cac atg aaa tac aat aga 1728  
 Ala Ile Ala Ala Gly Gln Leu Val Arg Ser His Met Lys Tyr Asn Arg  
 565 570 575

tcc agc cga gac atc tct gga gca acg aca acg aca aca aca aca aca 1776  
 Ser Ser Arg Asp Ile Ser Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 580 585 590

tga 1779

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 592

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;400&gt; 8

Met Asp Leu Arg Arg Arg Pro Pro Lys Pro Pro Val Thr Asn Asn Asn

1	5	10	15
Asn Ser Asn Gly Ser Phe Arg Ser Tyr Gln Pro Arg Thr Ser Asp Asp	20	25	30
Asp His Arg Arg Arg Ala Thr Thr Ile Ala Pro Pro Pro Lys Ala Ser	35	40	45
Asp Ala Leu Pro Leu Pro Leu Tyr Leu Thr Asn Ala Val Phe Phe Thr	50	55	60
Leu Phe Phe Ser Val Ala Tyr Tyr Leu Leu His Arg Trp Arg Asp Lys	65	70	75
Ile Arg Tyr Asn Thr Pro Leu His Val Val Thr Ile Thr Glu Leu Gly	85	90	95
Ala Ile Ile Ala Leu Ile Ala Ser Phe Ile Tyr Leu Leu Gly Phe Phe	100	105	110
Gly Ile Asp Phe Val Gln Ser Phe Ile Ser Arg Ala Ser Gly Asp Ala	115	120	125
Trp Asp Leu Ala Asp Thr Ile Asp Asp Asp Asp His Arg Leu Val Thr	130	135	140
Cys Ser Pro Pro Thr Pro Ile Val Ser Val Ala Lys Leu Pro Asn Pro	145	150	155
Glu Pro Ile Val Thr Glu Ser Leu Pro Glu Glu Asp Glu Glu Ile Val	165	170	175
Lys Ser Val Ile Asp Gly Val Ile Pro Ser Tyr Ser Leu Glu Ser Arg	180	185	190
Leu Gly Asp Cys Lys Arg Ala Ala Ser Ile Arg Arg Glu Ala Leu Gln	195	200	205
Arg Val Thr Gly Arg Ser Ile Glu Gly Leu Pro Leu Asp Gly Phe Asp			

210

215

220

Tyr Glu Ser Ile Leu Gly Gln Cys Cys Glu Met Pro Val Gly Tyr Ile  
225 230 235 240

Gln Ile Pro Val Gly Ile Ala Gly Pro Leu Leu Leu Asp Gly Tyr Glu  
245 250 255

Tyr Ser Val Pro Met Ala Thr Thr Glu Gly Cys Leu Val Ala Ser Thr  
260 265 270

Asn Arg Gly Cys Lys Ala Met Phe Ile Ser Gly Gly Ala Thr Ser Thr  
275 280 285

Val Leu Lys Asp Gly Met Thr Arg Ala Pro Val Val Arg Phe Ala Ser  
290 295 300

Ala Arg Arg Ala Ser Glu Leu Lys Phe Phe Leu Glu Asn Pro Glu Asn  
305 310 315 320

Phe Asp Thr Leu Ala Val Val Phe Asn Arg Ser Ser Arg Phe Ala Arg  
325 330 335

Leu Gln Ser Val Lys Cys Thr Ile Ala Gly Lys Asn Ala Tyr Val Arg  
340 345 350

Phe Cys Cys Ser Thr Gly Asp Ala Met Gly Met Asn Met Val Ser Lys  
355 360 365

Gly Val Gln Asn Val Leu Glu Tyr Leu Thr Asp Asp Phe Pro Asp Met  
370 375 380

Asp Val Ile Gly Ile Ser Gly Asn Phe Cys Ser Asp Lys Lys Pro Ala  
385 390 395 400

Ala Val Asn Trp Ile Glu Gly Arg Gly Lys Ser Val Val Cys Glu Ala  
405 410 415

Val Ile Arg Gly Glu Ile Val Asn Lys Val Leu Lys Thr Ser Val Ala

420

425

430

Ala Leu Val Glu Leu Asn Met Leu Lys Asn Leu Ala Gly Ser Ala Val  
435 440 445

Ala Gly Ser Leu Gly Gly Phe Asn Ala His Ala Ser Asn Ile Val Ser  
450 455 460

Ala Val Phe Ile Ala Thr Gly Gln Asp Pro Ala Gln Asn Val Glu Ser  
465 470 475 480

Ser Gln Cys Ile Thr Met Met Glu Ala Ile Asn Asp Gly Lys Asp Ile  
485 490 495

His Ile Ser Val Thr Met Pro Ser Ile Glu Val Gly Thr Val Gly Gly  
500 505 510

Gly Thr Gln Leu Ala Ser Gln Ser Ala Cys Leu Asn Leu Leu Gly Val  
515 520 525

Lys Gly Ala Ser Thr Glu Ser Pro Gly Met Asn Ala Arg Arg Leu Ala  
530 535 540

Thr Ile Val Ala Gly Ala Val Leu Ala Gly Glu Leu Ser Leu Met Ser  
545 550 555 560

Ala Ile Ala Ala Gly Gln Leu Val Arg Ser His Met Lys Tyr Asn Arg  
565 570 575

Ser Ser Arg Asp Ile Ser Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
580 585 590

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 1401

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana ISPH

**<223>**

<400> 9																		
atg gct gtt gcg ctc caa ttc agc cga tta tgc gtt cga ccg gat act	48																	
Met Ala Val Ala Leu Gln Phe Ser Arg Leu Cys Val Arg Pro Asp Thr																		
1 5 10 15																		
ttc gtg cgg gag aat cat ctc tct gga tcc gga tct ctc cgc cgc cgg	96																	
Phe Val Arg Glu Asn His Leu Ser Gly Ser Gly Ser Leu Arg Arg Arg																		
20 25 30																		
aaa gct tta tca gtc cgg tgc tcg tct ggc gat gag aac gct cct tcg	144																	
Lys Ala Leu Ser Val Arg Cys Ser Ser Gly Asp Glu Asn Ala Pro Ser																		
35 40 45																		
cca tcg gtg gtg atg gac tcc gat ttc gac gcc aag gtg ttc cgt aag	192																	
Pro Ser Val Val Met Asp Ser Asp Phe Asp Ala Lys Val Phe Arg Lys																		
50 55 60																		
aac ttg acg aga agc gat aat tac aat cgt aaa ggg ttc ggt cat aag	240																	
Asn Leu Thr Arg Ser Asp Asn Tyr Asn Arg Lys Gly Phe Gly His Lys																		
65 70 75 80																		
gag gag aca ctc aag ctc atg aat cga gag tac acc agt gat ata ttg	288																	
Glu Glu Thr Leu Lys Leu Met Asn Arg Glu Tyr Thr Ser Asp Ile Leu																		
85 90 95																		
gag aca ctg aaa aca aat ggg tat act tat tct tgg gga gat gtt act	336																	
Glu Thr Leu Lys Thr Asn Gly Tyr Thr Tyr Ser Trp Gly Asp Val Thr																		
100 105 110																		
gtg aaa ctc gct aaa gca tat ggt ttt tgc tgg ggt gtt gag cgt gct	384																	
Val Lys Leu Ala Lys Ala Tyr Gly Phe Cys Trp Gly Val Glu Arg Ala																		
115 120 125																		
gtt cag att gca tat gaa gca cga aag cag ttt cca gag gag agg ctt	432																	
Val Gln Ile Ala Tyr Glu Ala Arg Lys Gln Phe Pro Glu Glu Arg Leu																		
130 135 140																		
tgg att act aac gaa atc att cat aac ccg acc gtc aat aag agg ttg	480																	
Trp Ile Thr Asn Glu Ile Ile His Asn Pro Thr Val Asn Lys Arg Leu																		
145 150 155 160																		

gaa gat atg gat gtt aaa att att ccg gtt gag gat tca aag aaa cag	528
Glu Asp Met Asp Val Lys Ile Ile Pro Val Glu Asp Ser Lys Lys Gln	
165 170 175	
ttt gat gta gta gag aaa gat gat gtg gtt atc ctt cct gcg ttt gga	576
Phe Asp Val Val Glu Lys Asp Asp Val Val Ile Leu Pro Ala Phe Gly	
180 185 190	
gct ggt gtt gac gag atg tat gtt ctt aat gat aaa aag gtg caa att	624
Ala Gly Val Asp Glu Met Tyr Val Leu Asn Asp Lys Lys Val Gln Ile	
195 200 205	
gtt gac acg act tgt cct tgg gtg aca aag gtc tgg aac acg gtt gag	672
Val Asp Thr Thr Cys Pro Trp Val Thr Lys Val Trp Asn Thr Val Glu	
210 215 220	
aag cac aag aag ggg gaa tac aca tca gta atc cat ggt aaa tat aat	720
Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn	
225 230 235 240	
cat gaa gag acg att gca act gcg tct ttt gca gga aag tac atc att	768
His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile	
245 250 255	
gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816
Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly	
260 265 270	
ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864
Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys	
275 280 285	
ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912
Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val	
290 295 300	
aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960
Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu	
305 310 315 320	
gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008
Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val	
325 330 335	
gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056
Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala	
340 345 350	
act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104
Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile	
355 360 365	

gac ctc atg cta gtg gtt ggc gga tgg aat tca agt aac acc tct cac 1152  
 Asp Leu Met Leu Val Val Gly Gly Trp Asn Ser Ser Asn Thr Ser His  
 370 375 380  
  
 ctt cag gaa atc tca gag gca cgg gga atc cca tct tac tgg atc gat 1200  
 Leu Gln Glu Ile Ser Glu Ala Arg Gly Ile Pro Ser Tyr Trp Ile Asp  
 385 390 395 400  
  
 agt gag aaa cgg ata gga cct ggg aat aaa ata gcc tat aag ctc cac 1248  
 Ser Glu Lys Arg Ile Gly Pro Gly Asn Lys Ile Ala Tyr Lys Leu His  
 405 410 415  
  
 tat gga gaa ctg gtc gag aag gaa aac ttt ctc cca aag gga cca ata 1296  
 Tyr Gly Glu Leu Val Glu Lys Glu Asn Phe Leu Pro Lys Gly Pro Ile  
 420 425 430  
  
 aca atc ggt gtg aca tca ggt gca tca acc ccg gat aag gtc gtg gaa 1344  
 Thr Ile Gly Val Thr Ser Gly Ala Ser Thr Pro Asp Lys Val Val Glu  
 435 440 445  
  
 gat gct ttg gtg aag gtg ttc gac att aaa cgt gaa gag tta ttg cag 1392  
 Asp Ala Leu Val Lys Val Phe Asp Ile Lys Arg Glu Glu Leu Leu Gln  
 450 455 460  
  
 ctg gct tga 1401  
 Leu Ala  
 465

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 466

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana ISPH

&lt;400&gt; 10

Met Ala Val Ala Leu Gln Phe Ser Arg Leu Cys Val Arg Pro Asp Thr  
 1 5 10 15

Phe Val Arg Glu Asn His Leu Ser Gly Ser Gly Ser Leu Arg Arg Arg  
 20 25 30

Lys Ala Leu Ser Val Arg Cys Ser Ser Gly Asp Glu Asn Ala Pro Ser  
 35 40 45



Pro Ser Val Val Met Asp Ser Asp Phe Asp Ala Lys Val Phe Arg Lys  
50 55 60

Asn Leu Thr Arg Ser Asp Asn Tyr Asn Arg Lys Gly Phe Gly His Lys  
65 70 75 80

Glu Glu Thr Leu Lys Leu Met Asn Arg Glu Tyr Thr Ser Asp Ile Leu  
85 90 95

Glu Thr Leu Lys Thr Asn Gly Tyr Thr Tyr Ser Trp Gly Asp Val Thr  
100 105 110

Val Lys Leu Ala Lys Ala Tyr Gly Phe Cys Trp Gly Val Glu Arg Ala  
115 120 125

Val Gln Ile Ala Tyr Glu Ala Arg Lys Gln Phe Pro Glu Glu Arg Leu  
130 135 140

Trp Ile Thr Asn Glu Ile Ile His Asn Pro Thr Val Asn Lys Arg Leu  
145 150 155 160

Glu Asp Met Asp Val Lys Ile Ile Pro Val Glu Asp Ser Lys Lys Gln  
165 170 175

Phe Asp Val Val Glu Lys Asp Asp Val Val Ile Leu Pro Ala Phe Gly  
180 185 190

Ala Gly Val Asp Glu Met Tyr Val Leu Asn Asp Lys Lys Val Gln Ile  
195 200 205

Val Asp Thr Thr Cys Pro Trp Val Thr Lys Val Trp Asn Thr Val Glu  
210 215 220

Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn  
225 230 235 240

His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile  
245 250 255

Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly  
260 265 270

Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys  
275 280 285

Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val  
290 295 300

Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu  
305 310 315 320

Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val  
325 330 335

Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala  
340 345 350

Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile  
355 360 365

Asp Leu Met Leu Val Val Gly Gly Trp Asn Ser Ser Asn Thr Ser His  
370 375 380

Leu Gln Glu Ile Ser Glu Ala Arg Gly Ile Pro Ser Tyr Trp Ile Asp  
385 390 395 400

Ser Glu Lys Arg Ile Gly Pro Gly Asn Lys Ile Ala Tyr Lys Leu His  
405 410 415

Tyr Gly Glu Leu Val Glu Lys Glu Asn Phe Leu Pro Lys Gly Pro Ile  
420 425 430

Thr Ile Gly Val Thr Ser Gly Ala Ser Thr Pro Asp Lys Val Val Glu  
435 440 445

Asp Ala Leu Val Lys Val Phe Asp Ile Lys Arg Glu Glu Leu Leu Gln  
450 455 460

Leu Ala  
465

<210> 11

<211> 2160

**<212> DNA**

<213> Lycopersicon esculentum

**<220>**

<221> CDS

<222> (1) .. (2160)

**<223>**

[illegible]

Ala Asp Glu Leu Arg Ser Asp Thr Ile Phe Asn Val Ser Lys Thr Gly	
100 105 110	
ggt cac ctt ggc tca agt ctt ggt gtt gtt gag ctg act gtt gct ctt	384
Gly His Leu Gly Ser Ser Leu Gly Val Val Glu Leu Thr Val Ala Leu	
115 120 125	
cat tat gtc ttc aat gca ccg caa gat agg att ctc tgg gat gtt ggt	432
His Tyr Val Phe Asn Ala Pro Gln Asp Arg Ile Leu Trp Asp Val Gly	
130 135 140	
cat cag tct tat cct cac aaa atc ttg act ggt aga agg gac aag atg	480
His Gln Ser Tyr Pro His Lys Ile Leu Thr Gly Arg Arg Asp Lys Met	
145 150 155 160	
tcg aca tta agg cag aca gat ggt ctt gca gga ttt act aag cga tcg	528
Ser Thr Leu Arg Gln Thr Asp Gly Leu Ala Gly Phe Thr Lys Arg Ser	
165 170 175	
gag agt gaa tat gat tgc ttt ggc acc ggc cac agt tcc acc acc atc	576
Glu Ser Glu Tyr Asp Cys Phe Gly Thr Gly His Ser Ser Thr Thr Ile	
180 185 190	
tca gca ggc cta ggg atg gct gtt ggt aga gat cta aaa gga aga aac	624
Ser Ala Gly Leu Gly Met Ala Val Gly Arg Asp Leu Lys Gly Arg Asn	
195 200 205	
aac aat gtt att gcc gta ata ggt gat ggt gcc atg aca gca ggt caa	672
Asn Asn Val Ile Ala Val Ile Gly Asp Gly Ala Met Thr Ala Gly Gln	
210 215 220	
gct tat gaa gcc atg aat aat gct ggt tac ctg gac tct gac atg att	720
Ala Tyr Glu Ala Met Asn Asn Ala Gly Tyr Leu Asp Ser Asp Met Ile	
225 230 235 240	
gtt atc tta aac gac aat aga caa gtt tct tta cct act gct act ctg	768
Val Ile Leu Asn Asp Asn Arg Gln Val Ser Leu Pro Thr Ala Thr Leu	
245 250 255	
gat ggg cca gtt gct cct gtt gga gct cta agt agt gct ttg agc agg	816
Asp Gly Pro Val Ala Pro Val Gly Ala Leu Ser Ser Ala Leu Ser Arg	
260 265 270	
tta cag tct aat agg cct ctc aga gaa cta aga gaa gtc gca aag gga	864
Leu Gln Ser Asn Arg Pro Leu Arg Glu Leu Arg Glu Val Ala Lys Gly	
275 280 285	
gtt act aag cag att ggt ggt cct atg cat gag ctt gct gca aaa gtt	912
Val Thr Lys Gln Ile Gly Gly Pro Met His Glu Leu Ala Ala Lys Val	
290 295 300	
gat gaa tat gct cgt ggc atg att agt ggt tct gga tca aca ttg ttt	960

Asp	Glu	Tyr	Ala	Arg	Gly	Met	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Thr	Leu	Phe		
305					310				315						320		
gaa	gaa	ctt	gga	ctt	tac	tat	att	ggg	cct	gtg	gat	ggg	cac	aac	att	1008	
Glu	Glu	Leu	Gly	Leu	Tyr	Tyr	Ile	Gly	Pro	Val	Asp	Gly	His	Asn	Ile		
			325					330					335				
gat	gat	cta	att	gcg	att	ctc	aaa	gag	gtt	aga	agt	act	aaa	aca	aca	1056	
Asp	Asp	Leu	Ile	Ala	Ile	Leu	Lys	Glu	Val	Arg	Ser	Thr	Lys	Thr	Thr		
			340					345					350				
ggg	cca	gta	ctg	atc	cat	gtt	gtc	act	gag	aaa	ggc	aga	ggg	tat	cca	1104	
Gly	Pro	Val	Leu	Ile	His	Val	Val	Thr	Glu	Lys	Gly	Arg	Gly	Tyr	Pro		
			355					360					365				
tat	gct	gag	aga	gct	gca	gat	aag	tat	cat	gga	gtt	gcc	aag	ttt	gat	1152	
Tyr	Ala	Glu	Arg	Ala	Ala	Asp	Lys	Tyr	His	Gly	Val	Ala	Lys	Phe	Asp		
			370					375					380				
cca	gca	aca	gga	aag	caa	ttc	aaa	gcc	agt	gcc	aag	aca	cag	tcc	tat	1200	
Pro	Ala	Thr	Gly	Lys	Gln	Phe	Lys	Ala	Ser	Ala	Lys	Thr	Gln	Ser	Tyr		
			385					390							400		
aca	aca	tat	ttt	gcc	gag	gct	tta	att	gca	gaa	gca	gaa	gca	gat	aaa	1248	
Thr	Thr	Tyr	Phe	Ala	Glu	Ala	Leu	Ile	Ala	Glu	Ala	Glu	Ala	Asp	Lys		
			405						410					415			
gac	att	gtt	gca	atc	cat	gct	gcc	atg	ggg	ggg	ggg	acc	gga	atg	aac	1296	
Asp	Ile	Val	Ala	Ile	His	Ala	Ala	Met	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Met	Asn		
			420					425					430				
ctt	ttc	cat	cgt	cgc	ttc	cca	aca	agg	tgt	ttt	gat	gtt	gga	ata	gca	1344	
Leu	Phe	His	Arg	Arg	Phe	Pro	Thr	Arg	Cys	Phe	Asp	Val	Gly	Ile	Ala		
			435					440					445				
gaa	caa	cat	gca	gta	acc	ttt	gct	gct	gga	ttg	gct	tgt	gaa	ggc	att	1392	
Glu	Gln	His	Ala	Val	Thr	Phe	Ala	Ala	Gly	Leu	Ala	Cys	Glu	Gly	Ile		
			450					455				460					
aaa	cct	ttc	tgt	gca	atc	tat	tcg	tct	ttc	atg	cag	agg	gct	tat	gac	1440	
Lys	Pro	Phe	Cys	Ala	Ile	Tyr	Ser	Ser	Phe	Met	Gln	Arg	Ala	Tyr	Asp		
			465					470				475			480		
cag	gta	gtg	cat	gac	gtt	gat	ttg	caa	aag	ctg	ccc	gtg	agg	ttt	gca	1488	
Gln	Val	Val	His	Asp	Val	Asp	Leu	Gln	Lys	Leu	Pro	Val	Arg	Phe	Ala		
			485					490						495			
atg	gac	aga	gca	ggg	ctt	gtt	gga	gca	gat	ggg	cca	aca	cat	tgt	ggg	1536	
Met	Asp	Arg	Ala	Gly	Leu	Val	Gly	Ala	Asp	Gly	Pro	Thr					

Ala Phe Asp Val Thr Tyr Met Ala Cys Leu Pro Asn Met Val Val Met	
515 520 525	
gct cct tct gat gaa gcg gag cta ttt cac atg gta gca act gct gcc	1632
Ala Pro Ser Asp Glu Ala Glu Leu Phe His Met Val Ala Thr Ala Ala	
530 535 540	
gcc att gat gac aga cca agt tgt ttt aga tac cca aga gga aat ggg	1680
Ala Ile Asp Asp Arg Pro Ser Cys Phe Arg Tyr Pro Arg Gly Asn Gly	
545 550 555 560	
atc ggt gta gag ctt ccg gct gga aac aaa gga att cct ctt gag gtt	1728
Ile Gly Val Glu Leu Pro Ala Gly Asn Lys Gly Ile Pro Leu Glu Val	
565 570 575	
ggt aaa ggt agg ata ttg att gag ggg gag aga gtg gct cta ttg gga	1776
Gly Lys Gly Arg Ile Leu Ile Glu Gly Glu Arg Val Ala Leu Leu Gly	
580 585 590	
tat ggc tca gca gtg cag aac tgt ttg gat gct gct att gtg cta gaa	1824
Tyr Gly Ser Ala Val Gln Asn Cys Leu Asp Ala Ala Ile Val Leu Glu	
595 600 605	
tcc cgc ggc tta caa gta aca gtt gca gat gca cgt ttc tgc aaa cca	1872
Ser Arg Gly Leu Gln Val Thr Val Ala Asp Ala Arg Phe Cys Lys Pro	
610 615 620	
ctg gac cat gcc ctc ata agg agc ctt gca aaa tca cat gaa gtg cta	1920
Leu Asp His Ala Leu Ile Arg Ser Leu Ala Lys Ser His Glu Val Leu	
625 630 635 640	
atc act gtc gaa gaa gga tca att gga ggt ttt gga tct cat gtt gtt	1968
Ile Thr Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Gly Phe Gly Ser His Val Val	
645 650 655	
cag ttc atg gcc tta gat ggg ctt ctt gat ggc aag ttg aag tgg aga	2016
Gln Phe Met Ala Leu Asp Gly Leu Leu Asp Gly Lys Leu Lys Trp Arg	
660 665 670	
cca ata gtt ctt cct gat cga tac att gac cat gga tct cct gtt gat	2064
Pro Ile Val Leu Pro Asp Arg Tyr Ile Asp His Gly Ser Pro Val Asp	
675 680 685	
cag ttg gcg gaa gct ggc cta aca cca tct cac att gca gca aca gta	2112
Gln Leu Ala Glu Ala Gly Leu Thr Pro Ser His Ile Ala Ala Thr Val	
690 695 700	
ttt aac ata ctt gga caa acc aga gag gct cta gag gtc atg aca taa	2160
Phe Asn Ile Leu Gly Gln Thr Arg Glu Ala Leu Glu Val Met Thr	
705 710 715	

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 719

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Lycopersicon esculentum

&lt;400&gt; 12

Met Ala Leu Cys Ala Tyr Ala Phe Pro Gly Ile Leu Asn Arg Thr Gly  
 1 5 10 15

Val Val Ser Asp Ser Ser Lys Ala Thr Pro Leu Phe Ser Gly Trp Ile  
 20 25 30

His Gly Thr Asp Leu Gln Phe Leu Phe Gln His Lys Leu Thr His Glu  
 35 40 45

Val Lys Lys Arg Ser Arg Val Val Gln Ala Ser Leu Ser Glu Ser Gly  
 50 55 60

Glu Tyr Tyr Thr Gln Arg Pro Pro Thr Pro Ile Leu Asp Thr Val Asn  
 65 70 75 80

Tyr Pro Ile His Met Lys Asn Leu Ser Leu Lys Glu Leu Lys Gln Leu  
 85 90 95

Ala Asp Glu Leu Arg Ser Asp Thr Ile Phe Asn Val Ser Lys Thr Gly  
 100 105 110

Gly His Leu Gly Ser Ser Leu Gly Val Val Glu Leu Thr Val Ala Leu  
 115 120 125

His Tyr Val Phe Asn Ala Pro Gln Asp Arg Ile Leu Trp Asp Val Gly  
 130 135 140

His Gln Ser Tyr Pro His Lys Ile Leu Thr Gly Arg Arg Asp Lys Met  
 145 150 155 160

Ser Thr Leu Arg Gln Thr Asp Gly Leu Ala Gly Phe Thr Lys Arg Ser  
165 170 175

Glu Ser Glu Tyr Asp Cys Phe Gly Thr Gly His Ser Ser Thr Thr Ile  
180 185 190

Ser Ala Gly Leu Gly Met Ala Val Gly Arg Asp Leu Lys Gly Arg Asn  
195 200 205

Asn Asn Val Ile Ala Val Ile Gly Asp Gly Ala Met Thr Ala Gly Gln  
210 215 220

Ala Tyr Glu Ala Met Asn Asn Ala Gly Tyr Leu Asp Ser Asp Met Ile  
225 230 235 240

Val Ile Leu Asn Asp Asn Arg Gln Val Ser Leu Pro Thr Ala Thr Leu  
245 250 255

Asp Gly Pro Val Ala Pro Val Gly Ala Leu Ser Ser Ala Leu Ser Arg  
260 265 270

Leu Gln Ser Asn Arg Pro Leu Arg Glu Leu Arg Glu Val Ala Lys Gly  
275 280 285

Val Thr Lys Gln Ile Gly Gly Pro Met His Glu Leu Ala Ala Lys Val  
290 295 300

Asp Glu Tyr Ala Arg Gly Met Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Leu Phe  
305 310 315 320

Glu Glu Leu Gly Leu Tyr Tyr Ile Gly Pro Val Asp Gly His Asn Ile  
325 330 335

Asp Asp Leu Ile Ala Ile Leu Lys Glu Val Arg Ser Thr Lys Thr Thr  
340 345 350

Gly Pro Val Leu Ile His Val Val Thr Glu Lys Gly Arg Gly Tyr Pro  
355 360 365



Tyr Ala Glu Arg Ala Ala Asp Lys Tyr His Gly Val Ala Lys Phe Asp  
370 375 380

Pro Ala Thr Gly Lys Gln Phe Lys Ala Ser Ala Lys Thr Gln Ser Tyr  
385 390 395 400

Thr Thr Tyr Phe Ala Glu Ala Leu Ile Ala Glu Ala Glu Ala Asp Lys  
405 410 415

Asp Ile Val Ala Ile His Ala Ala Met Gly Gly Gly Thr Gly Met Asn  
420 425 430

Leu Phe His Arg Arg Phe Pro Thr Arg Cys Phe Asp Val Gly Ile Ala  
435 440 445

Glu Gln His Ala Val Thr Phe Ala Ala Gly Leu Ala Cys Glu Gly Ile  
450 455 460

Lys Pro Phe Cys Ala Ile Tyr Ser Ser Phe Met Gln Arg Ala Tyr Asp  
465 470 475 480

Gln Val Val His Asp Val Asp Leu Gln Lys Leu Pro Val Arg Phe Ala  
485 490 495

Met Asp Arg Ala Gly Leu Val Gly Ala Asp Gly Pro Thr His Cys Gly  
500 505 510

Ala Phe Asp Val Thr Tyr Met Ala Cys Leu Pro Asn Met Val Val Met  
515 520 525

Ala Pro Ser Asp Glu Ala Glu Leu Phe His Met Val Ala Thr Ala Ala  
530 535 540

Ala Ile Asp Asp Arg Pro Ser Cys Phe Arg Tyr Pro Arg Gly Asn Gly  
545 550 555 560

Ile Gly Val Glu Leu Pro Ala Gly Asn Lys Gly Ile Pro Leu Glu Val  
565 570 575

Gly Lys Gly Arg Ile Leu Ile Glu Gly Glu Arg Val Ala Leu Leu Gly  
580 585 590

Tyr Gly Ser Ala Val Gln Asn Cys Leu Asp Ala Ala Ile Val Leu Glu  
595 600 605

Ser Arg Gly Leu Gln Val Thr Val Ala Asp Ala Arg Phe Cys Lys Pro  
610 615 620

Leu Asp His Ala Leu Ile Arg Ser Leu Ala Lys Ser His Glu Val Leu  
625 630 635 640

Ile Thr Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Gly Phe Gly Ser His Val Val  
645 650 655

Gln Phe Met Ala Leu Asp Gly Leu Leu Asp Gly Lys Leu Lys Trp Arg  
660 665 670

Pro Ile Val Leu Pro Asp Arg Tyr Ile Asp His Gly Ser Pro Val Asp  
675 680 685

Gln Leu Ala Glu Ala Gly Leu Thr Pro Ser His Ile Ala Ala Thr Val  
690 695 700

Phe Asn Ile Leu Gly Gln Thr Arg Glu Ala Leu Glu Val Met Thr  
705 710 715

<210> 13

<211> 1434

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1434)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 13

atg atg aca tta aac tca cta tct cca gct gaa tcc aaa gct att tct	48
Met Met Thr Leu Asn Ser Leu Ser Pro Ala Glu Ser Lys Ala Ile Ser	
1 5 10 15	
ttc ttg gat acc tcc agg ttc aat cca atc cct aaa ctc tca ggt ggg	96
Phe Leu Asp Thr Ser Arg Phe Asn Pro Ile Pro Lys Leu Ser Gly Gly	
20 25 30	
ttt agt ttg agg agg agg aat caa ggg aga ggt ttt gga aaa ggt gtt	144
Phe Ser Leu Arg Arg Arg Asn Gln Gly Arg Gly Phe Gly Lys Gly Val	
35 40 45	
aag tgt tca gtg aaa gtg cag cag caa caa caa cct cct cca gca tgg	192
Lys Cys Ser Val Lys Val Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro Ala Trp	
50 55 60	
cct ggg aga gct gtc cct gag gcg cct cgt caa tct tgg gat gga cca	240
Pro Gly Arg Ala Val Pro Glu Ala Pro Arg Gln Ser Trp Asp Gly Pro	
65 70 75 80	
aaa ccc atc tct atc gtt gga tct act ggt tct att ggc act cag aca	288
Lys Pro Ile Ser Ile Val Gly Ser Thr Gly Ser Ile Gly Thr Gln Thr	
85 90 95	
ttg gat att gtg gct gag aat cct gac aaa ttc aga gtt gtg gct cta	336
Leu Asp Ile Val Ala Glu Asn Pro Asp Lys Phe Arg Val Val Ala Leu	
100 105 110	
gct gct ggt tct aat gtt act cta ctt gct gat cag gta agg aga ttt	384
Ala Ala Gly Ser Asn Val Thr Leu Leu Ala Asp Gln Val Arg Arg Phe	
115 120 125	
aag cct gca ttg gtt gct gtt aga aac gag tca ctg att aat gag ctt	432
Lys Pro Ala Leu Val Ala Val Arg Asn Glu Ser Leu Ile Asn Glu Leu	
130 135 140	
aaa gag gct tta gct gat ttg gac tat aaa ctc gag att att cca gga	480
Lys Glu Ala Leu Ala Asp Leu Asp Tyr Lys Leu Glu Ile Ile Pro Gly	
145 150 155 160	
gag caa gga gtg att gag gtt gcc cga cat cct gaa gct gta acc gtt	528
Glu Gln Gly Val Ile Glu Val Ala Arg His Pro Glu Ala Val Thr Val	
165 170 175	
gtt acc gga ata gta ggt tgt gcg gga cta aag cct acg gtt gct gca	576
Val Thr Gly Ile Val Gly Cys Ala Gly Leu Lys Pro Thr Val Ala Ala	
180 185 190	

att gaa gca gga aag gac att gct ctt gca aac aaa gag aca tta atc Ile Glu Ala Gly Lys Asp Ile Ala Leu Ala Asn Lys Glu Thr Leu Ile 195 200 205	624
gca ggt ggt cct ttc gtg ctt ccg ctt gcc aac aaa cat aat gta aag Ala Gly Gly Pro Phe Val Leu Pro Leu Ala Asn Lys His Asn Val Lys 210 215 220	672
att ctt ccg gca gat tca gaa cat tct gcc ata ttt cag tgt att caa Ile Leu Pro Ala Asp Ser Glu His Ser Ala Ile Phe Gln Cys Ile Gln 225 230 235 240	720
ggt ttg cct gaa ggc gct ctg cgc aag ata atc ttg act gca tct ggt Gly Leu Pro Glu Gly Ala Leu Arg Lys Ile Ile Leu Thr Ala Ser Gly 245 250 255	768
gga gct ttt agg gat tgg cct gtc gaa aag cta aag gaa gtt aaa gta Gly Ala Phe Arg Asp Trp Pro Val Glu Lys Leu Lys Glu Val Lys Val 260 265 270	816
gcg gat gcg ttg aag cat cca aac tgg aac atg gga aag aaa atc act Ala Asp Ala Leu Lys His Pro Asn Trp Asn Met Gly Lys Lys Ile Thr 275 280 285	864
gtg gac tct gct acg ctt ttc aac aag ggt ctt gag gtc att gaa gcg Val Asp Ser Ala Thr Leu Phe Asn Lys Gly Leu Glu Val Ile Glu Ala 290 295 300	912
cat tat ttg ttt gga gct gag tat gac gat ata gag att gtc att cat His Tyr Leu Phe Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Ile Glu Ile Val Ile His 305 310 315 320	960
ccg caa agt atc ata cat tcc atg att gaa aca cag gat tca tct gtg Pro Gln Ser Ile Ile His Ser Met Ile Glu Thr Gln Asp Ser Ser Val 325 330 335	1008
ctt gct caa ttg ggt tgg cct gat atg cgt tta ccg att ctc tac acc Leu Ala Gln Leu Gly Trp Pro Asp Met Arg Leu Pro Ile Leu Tyr Thr 340 345 350	1056
atg tca tgg ccc gat aga gtt cct tgt tct gaa gta act tgg cca aga Met Ser Trp Pro Asp Arg Val Pro Cys Ser Glu Val Thr Trp Pro Arg 355 360 365	1104
ctt gac ctt tgc aaa ctc ggt tca ttg act ttc aag aaa cca gac aat Leu Asp Leu Cys Lys Leu Gly Ser Leu Thr Phe Lys Lys Pro Asp Asn 370 375 380	1152
gtg aaa tac cca tcc atg gat ctt gct tat gct gct gga cga gct gga Val Lys Tyr Pro Ser Met Asp Leu Ala Tyr Ala Ala Gly Arg Ala Gly 385 390 395 400	1200

ggc aca atg act gga gtt ctc agc gcc gcc aat gag aaa gct gtt gaa 1248  
 Gly Thr Met Thr Gly Val Leu Ser Ala Ala Asn Glu Lys Ala Val Glu  
 405 410 415

atg ttc att gat gaa aag ata agc tat ttg gat atc ttc aag gtt gtg 1296  
 Met Phe Ile Asp Glu Lys Ile Ser Tyr Leu Asp Ile Phe Lys Val Val  
 420 425 430

gaa tta aca tgc gat aaa cat cga aac gag ttg gta aca tca ccg tct 1344  
 Glu Leu Thr Cys Asp Lys His Arg Asn Glu Leu Val Thr Ser Pro Ser  
 435 440 445

ctt gaa gag att gtt cac tat gac ttg tgg gca cgt gaa tat gcc gcg 1392  
 Leu Glu Glu Ile Val His Tyr Asp Leu Trp Ala Arg Glu Tyr Ala Ala  
 450 455 460

aat gtg cag ctt tct tct ggt gct agg-cca gtt cat gca tga 1434  
 Asn Val Gln Leu Ser Ser Gly Ala Arg Pro Val His Ala  
 465 470 475

<210> 14

<211> 477

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 14

Met Met Thr Leu Asn Ser Leu Ser Pro Ala Glu Ser Lys Ala Ile Ser  
 1 5 10 15

Phe Leu Asp Thr Ser Arg Phe Asn Pro Ile Pro Lys Leu Ser Gly Gly  
 20 25 30

Phe Ser Leu Arg Arg Arg Asn Gln Gly Arg Gly Phe Gly Lys Gly Val  
 35 40 45

Lys Cys Ser Val Lys Val Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro Ala Trp  
 50 55 60

Pro Gly Arg Ala Val Pro Glu Ala Pro Arg Gln Ser Trp Asp Gly Pro  
 65 70 75 80

Lys Pro Ile Ser Ile Val Gly Ser Thr Gly Ser Ile Gly Thr Gln Thr  
85 90 95

Leu Asp Ile Val Ala Glu Asn Pro Asp Lys Phe Arg Val Val Ala Leu  
100 105 110

Ala Ala Gly Ser Asn Val Thr Leu Leu Ala Asp Gln Val Arg Arg Phe  
115 120 125

Lys Pro Ala Leu Val Ala Val Arg Asn Glu Ser Leu Ile Asn Glu Leu  
130 135 140

Lys Glu Ala Leu Ala Asp Leu Asp Tyr Lys Leu Glu Ile Ile Pro Gly  
145 150 155 160

Glu Gln Gly Val Ile Glu Val Ala Arg His Pro Glu Ala Val Thr Val  
165 170 175

Val Thr Gly Ile Val Gly Cys Ala Gly Leu Lys Pro Thr Val Ala Ala  
180 185 190

Ile Glu Ala Gly Lys Asp Ile Ala Leu Ala Asn Lys Glu Thr Leu Ile  
195 200 205

Ala Gly Gly Pro Phe Val Leu Pro Leu Ala Asn Lys His Asn Val Lys  
210 215 220

Ile Leu Pro Ala Asp Ser Glu His Ser Ala Ile Phe Gln Cys Ile Gln  
225 230 235 240

Gly Leu Pro Glu Gly Ala Leu Arg Lys Ile Ile Leu Thr Ala Ser Gly  
245 250 255

Gly Ala Phe Arg Asp Trp Pro Val Glu Lys Leu Lys Glu Val Lys Val  
260 265 270

Ala Asp Ala Leu Lys His Pro Asn Trp Asn Met Gly Lys Lys Ile Thr  
275 280 285

Val Asp Ser Ala Thr Leu Phe Asn Lys Gly Leu Glu Val Ile Glu Ala  
290 295 300

His Tyr Leu Phe Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Ile Glu Ile Val Ile His  
305 310 315 320

Pro Gln Ser Ile Ile His Ser Met Ile Glu Thr Gln Asp Ser Ser Val  
325 330 335

Leu Ala Gln Leu Gly Trp Pro Asp Met Arg Leu Pro Ile Leu Tyr Thr  
340 345 350

Met Ser Trp Pro Asp Arg Val Pro Cys Ser Glu Val Thr Trp Pro Arg  
355 360 365

Leu Asp Leu Cys Lys Leu Gly Ser Leu Thr Phe Lys Lys Pro Asp Asn  
370 375 380

Val Lys Tyr Pro Ser Met Asp Leu Ala Tyr Ala Ala Gly Arg Ala Gly  
385 390 395 400

Gly Thr Met Thr Gly Val Leu Ser Ala Ala Asn Glu Lys Ala Val Glu  
405 410 415

Met Phe Ile Asp Glu Lys Ile Ser Tyr Leu Asp Ile Phe Lys Val Val  
420 425 430

Glu Leu Thr Cys Asp Lys His Arg Asn Glu Leu Val Thr Ser Pro Ser  
435 440 445

Leu Glu Glu Ile Val His Tyr Asp Leu Trp Ala Arg Glu Tyr Ala Ala  
450 455 460

Asn Val Gln Leu Ser Ser Gly Ala Arg Pro Val His Ala  
465 470 475

<210> 15

&lt;211&gt; 884

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Adonis palaestina clone ApIPI28

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (180)..(884)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 15

cgtcgatcag gattaatcct ttatatagta tcttctccac caccactaaa acattatcag 60

cttcgtgttc ttctcccgt gttcatcttc agcagcgttg tcgtactctt tctatttctt 120

cttccatcac taacagtcct cgccgagggt tgaatcggtt gttcgccctca acgtcgact 179

atg ggt gaa gtc gct gat gct ggt atg gat gcc gtc cag aag cgg ctt 227  
 Met Gly Glu Val Ala Asp Ala Gly Met Asp Ala Val Gln Lys Arg Leu  
 1 5 10 15

atg ttc gac gat gaa tgt att ttg gtg gat gag aat gac aag gtc gtc 275  
 Met Phe Asp Asp Glu Cys Ile Leu Val Asp Glu Asn Asp Lys Val Val  
 20 25 30

gga cat gat tcc aaa tac aac tgt cat ttg atg gaa aag ata gag gca 323  
 Gly His Asp Ser Lys Tyr Asn Cys His Leu Met Glu Lys Ile Glu Ala  
 35 40 45

gaa aac ttg ctt cac aga gcc ttc agt gtt ttc tta ttc aac tca aaa 371  
 Glu Asn Leu Leu His Arg Ala Phe Ser Val Phe Leu Phe Asn Ser Lys  
 50 55 60

tac gag ttg ctt ctt cag caa cga tct gca acg aag gta aca ttc ccg 419  
 Tyr Glu Leu Leu Leu Gln Gln Arg Ser Ala Thr Lys Val Thr Phe Pro  
 65 70 75 80

ctc gta tgg aca aac acc tgt tgc agc cat ccc ctc ttc cgt gat tcc 467  
 Leu Val Trp Thr Asn Thr Cys Cys Ser His Pro Leu Phe Arg Asp Ser  
 85 90 95

gaa ctc ata gaa gaa aat ttt ctc ggg gta cga aac gct gca caa agg 515  
 Glu Leu Ile Glu Glu Asn Phe Leu Gly Val Arg Asn Ala Ala Gln Arg  
 100 105 110



aag ctt tta gac gag cta ggc att cca gct gaa gac gta cca gtt gat 563  
Lys Leu Leu Asp Glu Leu Gly Ile Pro Ala Glu Asp Val Pro Val Asp  
115 120 125

gaa ttc act cct ctt ggt cgc att ctt tac aaa gct cca tct gac gga 611  
Glu Phe Thr Pro Leu Gly Arg Ile Leu Tyr Lys Ala Pro Ser Asp Gly  
130 135 140

aaa tgg gga gag cac gaa ctg gac tat ctt ctg ttt att gtc cga gat 659  
Lys Trp Gly Glu His Glu Leu Asp Tyr Leu Leu Phe Ile Val Arg Asp  
145 150 155 160

gtg aaa tac gat cca aac cca gat gaa gtt gct gac gct aag tac gtt 707  
Val Lys Tyr Asp Pro Asn Pro Asp Glu Val Ala Asp Ala Lys Tyr Val  
165 170 175

aat cgc gag gag ttg aaa gag ata ctg aga aaa gct gat gca ggt gaa 755  
Asn Arg Glu Glu Leu Lys Glu Ile Leu Arg Lys Ala Asp Ala Gly Glu  
180 185 190

gag gga ata aag ttg tct cct tgg ttt aga ttg gtt gtg gat aac ttt 803  
Glu Gly Ile Lys Leu Ser Pro Trp Phe Arg Leu Val Val Asp Asn Phe  
195 200 205

ttg ttc aag tgg tgg gat cat gta gag gag ggg aag att aag gac gtc 851  
Leu Phe Lys Trp Trp Asp His Val Glu Glu Gly Lys Ile Lys Asp Val  
210 215 220

gcc gac atg aaa act atc cac aag ttg act taa 884  
Ala Asp Met Lys Thr Ile His Lys Leu Thr  
225 230

<210> 16

<211> 234

<212> PRT

<213> Adonis palaestina clone ApIPI28

<400> 16

Met Gly Glu Val Ala Asp Ala Gly Met Asp Ala Val Gln Lys Arg Leu  
1 5 10 15

Met Phe Asp Asp Glu Cys Ile Leu Val Asp Glu Asn Asp Lys Val Val  
20 25 30

Gly His Asp Ser Lys Tyr Asn Cys His Leu Met Glu Lys Ile Glu Ala  
35 40 45

Glu Asn Leu Leu His Arg Ala Phe Ser Val Phe Leu Phe Asn Ser Lys  
50 55 60

Tyr Glu Leu Leu Leu Gln Gln Arg Ser Ala Thr Lys Val Thr Phe Pro  
65 70 75 80

Leu Val Trp Thr Asn Thr Cys Cys Ser His Pro Leu Phe Arg Asp Ser  
85 90 95

Glu Leu Ile Glu Glu Asn Phe Leu Gly Val Arg Asn Ala Ala Gln Arg  
100 105 110

Lys Leu Leu Asp Glu Leu Gly Ile Pro Ala Glu Asp Val Pro Val Asp  
115 120 125

Glu Phe Thr Pro Leu Gly Arg Ile Leu Tyr Lys Ala Pro Ser Asp Gly  
130 135 140

Lys Trp Gly Glu His Glu Leu Asp Tyr Leu Leu Phe Ile Val Arg Asp  
145 150 155 160

Val Lys Tyr Asp Pro Asn Pro Asp Glu Val Ala Asp Ala Lys Tyr Val  
165 170 175

Asn Arg Glu Glu Leu Lys Glu Ile Leu Arg Lys Ala Asp Ala Gly Glu  
180 185 190

Glu Gly Ile Lys Leu Ser Pro Trp Phe Arg Leu Val Val Asp Asn Phe  
195 200 205

Leu Phe Lys Trp Trp Asp His Val Glu Glu Gly Lys Ile Lys Asp Val  
210 215 220

Ala Asp Met Lys Thr Ile His Lys Leu Thr  
225 230

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 1402

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (52)..(1317)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 17

aagtcctttgc ctcttttggtt tactttcctc tgttttcgat ccatttagaa a atg tta 57  
 Met Leu  
 1

ttc acg agg agt gtt gct cgg att tct tct aag ttt ctg aga aac cgt 105  
 Phe Thr Arg Ser Val Ala Arg Ile Ser Ser Lys Phe Leu Arg Asn Arg  
 5 10 15

agc ttc tat ggc tcc tct caa tct ctc gcc tct cat cgg ttc gca atc 153  
 Ser Phe Tyr Gly Ser Ser Gln Ser Leu Ala Ser His Arg Phe Ala Ile  
 20 25 30

att ccc gat cag ggt cac tct tgt tct gac tct cca cac aag ggt tac 201  
 Ile Pro Asp Gln Gly His Ser Cys Ser Asp Ser Pro His Lys Gly Tyr  
 35 40 45 50

gtt tgc aga aca act tat tca ttg aaa tct ccg gtt ttt ggt gga ttt 249  
 Val Cys Arg Thr Thr Tyr Ser Leu Lys Ser Pro Val Phe Gly Gly Phe  
 55 60 65

agt cat caa ctc tat cac cag agt agc tcc ttg gtt gag gag gag ctt 297  
 Ser His Gln Leu Tyr His Gln Ser Ser Ser Leu Val Glu Glu Glu Leu  
 70 75 80

gac cca ttt tcg ctt gtt gcc gat gag ctg tca ctt ctt agt aat aag 345  
 Asp Pro Phe Ser Leu Val Ala Asp Glu Leu Ser Leu Leu Ser Asn Lys  
 85 90 95

ttg aga gag atg gta ctt gcc gag gtt cca aag ctt gcc tct gct gct 393

Leu Arg Glu Met Val Leu Ala Glu Val Pro Lys Leu Ala Ser Ala Ala	
100 105 110	
gag tac ttc ttc aaa agg ggt gtg caa gga aaa cag ttt cgt tca act	441
Glu Tyr Phe Phe Lys Arg Gly Val Gln Gly Lys Gln Phe Arg Ser Thr	
115 120 125 130	
att ttg ctg ctg atg gcg aca gct ctg gat gta cga gtt cca gaa gca	489
Ile Leu Leu Leu Met Ala Thr Ala Leu Asp Val Arg Val Pro Glu Ala	
135 140 145	
ttg att ggg gaa tca aca gat ata gtc aca tca gaa tta cgc gta agg	537
Leu Ile Gly Glu Ser Thr Asp Ile Val Thr Ser Glu Leu Arg Val Arg	
150 155 160	
caa cgg ggt att gct gaa atc act gaa atg ata cac gtc gca agt cta	585
Gln Arg Gly Ile Ala Glu Ile Thr Glu Met Ile His Val Ala Ser Leu	
165 170 175	
ctg cac gat gat gtc ttg gat gat gcc gat aca agg cgt ggt gtt ggt	633
Leu His Asp Asp Val Leu Asp Asp Ala Asp Thr Arg Arg Gly Val Gly	
180 185 190	
tcc tta aat gtt gta atg ggt aac aag atg tcg gta tta gca gga gac	681
Ser Leu Asn Val Val Met Gly Asn Lys Met Ser Val Leu Ala Gly Asp	
195 200 205 210	
ttc ttg ctc tcc cgg gct tgt ggg gct ctc gct gct tta aag aac aca	729
Phe Leu Leu Ser Arg Ala Cys Gly Ala Leu Ala Ala Leu Lys Asn Thr	
215 220 225	
gag gtt gta gca tta ctt gca act gct gta gaa cat ctt gtt acc ggt	777
Glu Val Val Ala Leu Leu Ala Thr Ala Val Glu His Leu Val Thr Gly	
230 235 240	
gaa acc atg gag ata act agt tca acc gag cag cgt tat agt atg gac	825
Glu Thr Met Glu Ile Thr Ser Ser Thr Glu Gln Arg Tyr Ser Met Asp	
245 250 255	
tac tac atg cag aag aca tat tat aag aca gca tcg cta atc tct aac	873
Tyr Tyr Met Gln Lys Thr Tyr Tyr Lys Thr Ala Ser Leu Ile Ser Asn	
260 265 270	
agc tgc aaa gct gtt gcc gtt ctc act gga caa aca gca gaa gtt gcc	921
Ser Cys Lys Ala Val Ala Val Leu Thr Gly Gln Thr Ala Glu Val Ala	
275 280 285 290	
gtg tta gct ttt gag tat ggg agg aat ctg ggt tta gca ttc caa tta	969
Val Leu Ala Phe Glu Tyr Gly Arg Asn Leu Gly Leu Ala Phe Gln Leu	
295 300 305	
ata gac gac att ctt gat ttc acg ggc aca tct gcc tct ctc gga aag	1017

Ile Asp Asp Ile Leu Asp Phe Thr Gly Thr Ser Ala Ser Leu Gly Lys  
 310 315 320

gga tcg ttg tca gat att cgc cat gga gtc ata aca gcc cca atc ctc 1065  
 Gly Ser Leu Ser Asp Ile Arg His Gly Val Ile Thr Ala Pro Ile Leu  
 325 330 335

ttt gcc atg gaa gag ttt cct caa cta cgc gaa gtt gtt gat caa gtt 1113  
 Phe Ala Met Glu Glu Phe Pro Gln Leu Arg Glu Val Val Asp Gln Val  
 340 345 350

gaa aaa gat cct agg aat gtt gac att gct tta gag tat ctt ggg aag 1161  
 Glu Lys Asp Pro Arg Asn Val Asp Ile Ala Leu Glu Tyr Leu Gly Lys  
 355 360 365 370

agc aag gga ata cag agg gca aga gaa tta gcc atg gaa cat gcg aat 1209  
 Ser Lys Gly Ile Gln Arg Ala Arg Glu Leu Ala Met Glu His Ala Asn  
 375 380 385

cta gca gca gct gca atc ggg tct cta cct gaa aca gac aat gaa gat 1257  
 Leu Ala Ala Ala Ala Ile Gly Ser Leu Pro Glu Thr Asp Asn Glu Asp  
 390 395 400

gtc aaa aga tcg agg cgg gca ctt att gac ttg acc cat aga gtc atc 1305  
 Val Lys Arg Ser Arg Arg Ala Leu Ile Asp Leu Thr His Arg Val Ile  
 405 410 415

acc aga aac aag tgagattaag taatgtttct ctctatacac caaaacattc 1357  
 Thr Arg Asn Lys  
 420

ctcatttcat ttgtaggatt ttgttggtcc aattcgtttc acgaa 1402

<210> 18

<211> 422

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 18

Met Leu Phe Thr Arg Ser Val Ala Arg Ile Ser Ser Lys Phe Leu Arg  
 1 5 10 15

Asn Arg Ser Phe Tyr Gly Ser Ser Gln Ser Leu Ala Ser His Arg Phe  
 20 25 30

Ala Ile Ile Pro Asp Gln Gly His Ser Cys Ser Asp Ser Pro His Lys  
 35 40 45

Gly Tyr Val Cys Arg Thr Thr Tyr Ser Leu Lys Ser Pro Val Phe Gly  
 50 55 60

Gly Phe Ser His Gln Leu Tyr His Gln Ser Ser Ser Leu Val Glu Glu  
 65 70 75 80

Glu Leu Asp Pro Phe Ser Leu Val Ala Asp Glu Leu Ser Leu Leu Ser  
 85 90 95

Asn Lys Leu Arg Glu Met Val Leu Ala Glu Val Pro Lys Leu Ala Ser  
 100 105 110

Ala Ala Glu Tyr Phe Phe Lys Arg Gly Val Gln Gly Lys Gln Phe Arg  
 115 120 125

Ser Thr Ile Leu Leu Leu Met Ala Thr Ala Leu Asp Val Arg Val Pro  
 130 135 140

Glu Ala Leu Ile Gly Glu Ser Thr Asp Ile Val Thr Ser Glu Leu Arg  
 145 150 155 160

Val Arg Gln Arg Gly Ile Ala Glu Ile Thr Glu Met Ile His Val Ala  
 165 170 175

Ser Leu Leu His Asp Asp Val Leu Asp Asp Ala Asp Thr Arg Arg Gly  
 180 185 190

Val Gly Ser Leu Asn Val Val Met Gly Asn Lys Met Ser Val Leu Ala  
 195 200 205

Gly Asp Phe Leu Leu Ser Arg Ala Cys Gly Ala Leu Ala Ala Leu Lys  
 210 215 220

Asn Thr Glu Val Val Ala Leu Leu Ala Thr Ala Val Glu His Leu Val  
 225 230 235 240

Thr Gly Glu Thr Met Glu Ile Thr Ser Ser Thr Glu Gln Arg Tyr Ser  
245 250 255

Met Asp Tyr Tyr Met Gln Lys Thr Tyr Tyr Lys Thr Ala Ser Leu Ile  
260 265 270

Ser Asn Ser Cys Lys Ala Val Ala Val Leu Thr Gly Gln Thr Ala Glu  
275 280 285

Val Ala Val Leu Ala Phe Glu Tyr Gly Arg Asn Leu Gly Leu Ala Phe  
290 295 300

Gln Leu Ile Asp Asp Ile Leu Asp Phe Thr Gly Thr Ser Ala Ser Leu  
305 310 315 320

Gly Lys Gly Ser Leu Ser Asp Ile Arg His Gly Val Ile Thr Ala Pro  
325 330 335

Ile Leu Phe Ala Met Glu Glu Phe Pro Gln Leu Arg Glu Val Val Asp  
340 345 350

Gln Val Glu Lys Asp Pro Arg Asn Val Asp Ile Ala Leu Glu Tyr Leu  
355 360 365

Gly Lys Ser Lys Gly Ile Gln Arg Ala Arg Glu Leu Ala Met Glu His  
370 375 380

Ala Asn Leu Ala Ala Ala Ala Ile Gly Ser Leu Pro Glu Thr Asp Asn  
385 390 395 400

Glu Asp Val Lys Arg Ser Arg Arg Ala Leu Ile Asp Leu Thr His Arg  
405 410 415

Val Ile Thr Arg Asn Lys  
420

<210> 19





Ala Tyr Phe Leu Val Leu Asp Asp Ile Met Asp Asn Ser Val Thr Arg	
130 135 140	
cg t ggt caa cct tgc tgg ttc aga gtt cct cag gtt ggt atg gtt gcc	480
Arg Gly Gln Pro Cys Trp Phe Arg Val Pro Gln Val Gly Met Val Ala	
145 150 155 160	
atc aat gat ggg att cta ctt cgc aat cac atc cac agg att ctc aaa	528
Ile Asn Asp Gly Ile Leu Leu Arg Asn His Ile His Arg Ile Leu Lys	
165 170 175	
aag cat ttc cg t gat aag cct tac tat gtt gac ctt gtt gat ttg ttt	576
Lys His Phe Arg Asp Lys Pro Tyr Tyr Val Asp Leu Val Asp Leu Phe	
180 185 190	
aat gag gtt gag ttg caa aca gct tgt ggc cag atg ata gat ttg atc	624
Asn Glu Val Glu Leu Gln Thr Ala Cys Gly Gln Met Ile Asp Leu Ile	
195 200 205	
acc acc ttt gaa gga gaa aag gat ttg gcc aag tac tca ttg tca atc	672
Thr Thr Phe Glu Gly Glu Lys Asp Leu Ala Lys Tyr Ser Leu Ser Ile	
210 215 220	
cac cg t cg t att gtc cag tac aaa acg gct tat tac tca ttt tat ctc	720
His Arg Arg Ile Val Gln Tyr Lys Thr Ala Tyr Tyr Ser Phe Tyr Leu	
225 230 235 240	
cct gtt gct tgt gcg ttg ctt atg gcg ggc gaa aat ttg gaa aac cat	768
Pro Val Ala Cys Ala Leu Leu Met Ala Gly Glu Asn Leu Glu Asn His	
245 250 255	
att gac gtg aaa aat gtt ctt gtt gac atg gga atc tac ttc caa gtg	816
Ile Asp Val Lys Asn Val Leu Val Asp Met Gly Ile Tyr Phe Gln Val	
260 265 270	
cag gat gat tat ctg gat tgt ttt gct gat ccc gag acg ctt ggc aag	864
Gln Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Phe Ala Asp Pro Glu Thr Leu Gly Lys	
275 280 285	
ata gga aca gat ata gaa gat ttc aaa tgc tcg tgg ttg gtg gtt aag	912
Ile Gly Thr Asp Ile Glu Asp Phe Lys Cys Ser Trp Leu Val Val Lys	
290 295 300	
gca tta gag cgc tgc agc gaa gaa caa act aag ata tta tat gag aac	960
Ala Leu Glu Arg Cys Ser Glu Glu Gln Thr Lys Ile Leu Tyr Glu Asn	
305 310 315 320	
tat ggt aaa ccc gac cca tcg aac gtt gct aaa gtg aag gat ctc tac	1008
Tyr Gly Lys Pro Asp Pro Ser Asn Val Ala Lys Val Lys Asp Leu Tyr	
325 330 335	
aaa gag ctg gat ctt gag gga gtt ttc atg gag tat gag agc aaa agc	1056

Lys Glu Leu Asp Leu Glu Gly Val Phe Met Glu Tyr Glu Ser Lys Ser  
 340 345 350  
 tac gag aag ctg act gga gcg att gag gga cac caa agt aaa gca atc 1104  
 Tyr Glu Lys Leu Thr Gly Ala Ile Glu Gly His Gln Ser Lys Ala Ile  
 355 360 365  
 caa gca gtg cta aaa tcc ttc ttg gct aag atc tac aag agg cag aag 1152  
 Gln Ala Val Leu Lys Ser Phe Leu Ala Lys Ile Tyr Lys Arg Gln Lys  
 370 375 380  
 tag 1155

<210> 20

<211> 384

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 20

Met Ser Val Ser Cys Cys Cys Arg Asn Leu Gly Lys Thr Ile Lys Lys  
 1 5 10 15

Ala Ile Pro Ser His His Leu His Leu Arg Ser Leu Gly Gly Ser Leu  
 20 25 30

Tyr Arg Arg Arg Ile Gln Ser Ser Ser Met Glu Thr Asp Leu Lys Ser  
 35 40 45

Thr Phe Leu Asn Val Tyr Ser Val Leu Lys Ser Asp Leu Leu His Asp  
 50 55 60

Pro Ser Phe Glu Phe Thr Asn Glu Ser Arg Leu Trp Val Asp Arg Met  
 65 70 75 80

Leu Asp Tyr Asn Val Arg Gly Gly Lys Leu Asn Arg Gly Leu Ser Val  
 85 90 95

Val Asp Ser Phe Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Asp Leu Thr Glu Gln  
 100 105 110

Glu Val Phe Leu Ser Cys Ala Leu Gly Trp Cys Ile Glu Trp Leu Gln  
115 120 125

Ala Tyr Phe Leu Val Leu Asp Asp Ile Met Asp Asn Ser Val Thr Arg  
130 135 140

Arg Gly Gln Pro Cys Trp Phe Arg Val Pro Gln Val Gly Met Val Ala  
145 150 155 160

Ile Asn Asp Gly Ile Leu Leu Arg Asn His Ile His Arg Ile Leu Lys  
165 170 175

Lys His Phe Arg Asp Lys Pro Tyr Tyr Val Asp Leu Val Asp Leu Phe  
180 185 190

Asn Glu Val Glu Leu Gln Thr Ala Cys Gly Gln Met Ile Asp Leu Ile  
195 200 205

Thr Thr Phe Glu Gly Glu Lys Asp Leu Ala Lys Tyr Ser Leu Ser Ile  
210 215 220

His Arg Arg Ile Val Gln Tyr Lys Thr Ala Tyr Tyr Ser Phe Tyr Leu  
225 230 235 240

Pro Val Ala Cys Ala Leu Leu Met Ala Gly Glu Asn Leu Glu Asn His  
245 250 255

Ile Asp Val Lys Asn Val Leu Val Asp Met Gly Ile Tyr Phe Gln Val  
260 265 270

Gln Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Phe Ala Asp Pro Glu Thr Leu Gly Lys  
275 280 285

Ile Gly Thr Asp Ile Glu Asp Phe Lys Cys Ser Trp Leu Val Val Lys  
290 295 300

Ala Leu Glu Arg Cys Ser Glu Glu Gln Thr Lys Ile Leu Tyr Glu Asn  
305 310 315 320

Tyr Gly Lys Pro Asp Pro Ser Asn Val Ala Lys Val Lys Asp Leu Tyr  
 325 330 335

Lys Glu Leu Asp Leu Glu Gly Val Phe Met Glu Tyr Glu Ser Lys Ser  
 340 345 350

Tyr Glu Lys Leu Thr Gly Ala Ile Glu Gly His Gln Ser Lys Ala Ile  
 355 360 365

Gln Ala Val Leu Lys Ser Phe Leu Ala Lys Ile Tyr Lys Arg Gln Lys  
 370 375 380

<210> 21

<211> 1101

<212> DNA

<213> Sinabs alba

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1101)

<223>

<400> 21

atg gct tct tca gtg act cct cta ggt tca tgg gtt ctt ctt cac cat 48  
 Met Ala Ser Ser Val Thr Pro Leu Gly Ser Trp Val Leu Leu His His  
 1 5 10 15

cat cct tca act atc tta acc caa tcc aga tcc aga tct cct cct tct 96  
 His Pro Ser Thr Ile Leu Thr Gln Ser Arg Ser Arg Ser Pro Pro Ser  
 20 25 30

ctc atc acc ctt aaa ccc atc tcc ctc act cca aaa cgc acc gtt tcg 144  
 Leu Ile Thr Leu Lys Pro Ile Ser Leu Thr Pro Lys Arg Thr Val Ser  
 35 40 45

tct tct tcc tcc tct tcc ctc atc acc aaa gaa gac aac aac ctc aaa 192

Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Leu	Ile	Thr	Lys	Glu	Asp	Asn	Asn	Leu	Lys	
50						55					60					
tcc	tct	tcc	tct	tcc	ttc	gat	ttc	atg	tct	tac	atc	atc	cgc	aaa	gcc	240
Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Phe	Asp	Phe	Met	Ser	Tyr	Ile	Ile	Arg	Lys	Ala	
65					70					75				80		
gac	tcc	gtc	aac	aaa	gcc	tta	gac	tcc	gcc	gtc	cct	ctc	cgg	gag	cca	288
Asp	Ser	Val	Asn	Lys	Ala	Leu	Asp	Ser	Ala	Val	Pro	Leu	Arg	Glu	Pro	
				85					90					95		
ctc	aag	atc	cac	gaa	gcg	atg	cgt	tac	tct	ctc	ctc	gcc	gga	gga	aaa	336
Leu	Lys	Ile	His	Glu	Ala	Met	Arg	Tyr	Ser	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Lys	
			100					105					110			
cgc	gtc	aga	cca	gtt	ctc	tgc	atc	gcc	gcg	tgc	gag	cta	gtc	gga	gga	384
Arg	Val	Arg	Pro	Val	Leu	Cys	Ile	Ala	Ala	Cys	Glu	Leu	Val	Gly	Gly	
		115					120					125				
gaa	gag	tct	tta	gct	atg	ccg	gcg	cgt	tgc	gcc	gtg	gaa	atg	atc	cac	432
Glu	Glu	Ser	Leu	Ala	Met	Pro	Ala	Arg	Cys	Ala	Val	Glu	Met	Ile	His	
		130				135					140					
acc	atg	tcg	ttg	atc	cac	gac	gac	ttg	cct	tgt	atg	gat	aac	gac	gat	480
Thr	Met	Ser	Leu	Ile	His	Asp	Asp	Leu	Pro	Cys	Met	Asp	Asn	Asp	Asp	
145					150					155					160	
ctc	cgc	cgc	gga	aag	ccc	acg	aat	cac	aaa	gtt	tac	ggc	gaa	gac	gtg	528
Leu	Arg	Arg	Gly	Lys	Pro	Thr	Asn	His	Lys	Val	Tyr	Gly	Glu	Asp	Val	
				165					170					175		
gcg	gtt	tta	gcc	gga	gac	gcg	ctt	ctt	tcg	ttc	gcc	ttc	gag	cat	tta	576
Ala	Val	Leu	Ala	Gly	Asp	Ala	Leu	Leu	Ser	Phe	Ala	Phe	Glu	His	Leu	
			180					185					190			
gcg	tcg	gct	acg	agc	tcg	gag	gtt	tct	ccg	gcg	aga	gtg	gtt	aga	gct	624
Ala	Ser	Ala	Thr	Ser	Ser	Glu	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Val	Val	Arg	Ala	
		195					200					205				
gtg	gga	gag	ttg	gct	aaa	gcc	atc	ggc	acc	gaa	ggg	ctc	gtg	gcg	gga	672
Val	Gly	Glu	Leu	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Thr	Glu	Gly	Leu	Val	Ala	Gly	
		210				215					220					
caa	gtg	gtg	gat	ata	agc	agt	gaa	ggg	ttg	gac	tta	aac	aac	gtc	gga	720
Gln	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Ser	Glu	Gly	Leu	Asp	Leu	Asn	Asn	Val	Gly	
225					230					235				240		
ttg	gag	cat	ttg	aag	ttt	ata	cat	ttg	cat	aaa	acg	gcg	gcg	ttg	ctt	768
Leu	Glu	His	Leu	Lys	Phe	Ile	His	Leu	His	Lys	Thr	Ala	Ala	Leu	Leu	
				245					250					255		
gaa	gct	tca	gcg	gtt	ttg	ggg	atc	atc	ggg	gga	ggg	agt	gat	gaa		816

Glu Ala Ser Ala Val Leu Gly Gly Ile Ile Gly Gly Gly Ser Asp Glu  
 260 265 270

gag atc gag agg ctg agg aag ttc gcg agg tgt att ggg ttg ttg ttt 864  
 Glu Ile Glu Arg Leu Arg Lys Phe Ala Arg Cys Ile Gly Leu Leu Phe  
 275 280 285

cag gtg gtt gat gat atc ttg gac gtg acg aaa tcg tct caa gaa ctg 912  
 Gln Val Val Asp Asp Ile Leu Asp Val Thr Lys Ser Ser Gln Glu Leu  
 290 295 300

ggg aaa acc gct ggg aaa gat ttg att gct gat aag ttg act tat ccg 960  
 Gly Lys Thr Ala Gly Lys Asp Leu Ile Ala Asp Lys Leu Thr Tyr Pro  
 305 310 315 320

aag ctc atg ggt ttg gag aaa tcg aga gag ttc gct gag aag ttg aat 1008  
 Lys Leu Met Gly Leu Glu Lys Ser Arg Glu Phe Ala Glu Lys Leu Asn  
 325 330 335

aca gag gca cgt gat cag ctt tta ggg ttt gat tcc gac aag gtt gct 1056  
 Thr Glu Ala Arg Asp Gln Leu Leu Gly Phe Asp Ser Asp Lys Val Ala  
 340 345 350

cct ttg ttg gct ttg gct aat tac att gcc aat aga cag aac tga 1101  
 Pro Leu Leu Ala Leu Ala Asn Tyr Ile Ala Asn Arg Gln Asn  
 355 360 365

<210> 22

<211> 366

<212> PRT

<213> Sinabs alba

<400> 22

Met Ala Ser Ser Val Thr Pro Leu Gly Ser Trp Val Leu Leu His His  
 1 5 10 15

His Pro Ser Thr Ile Leu Thr Gln Ser Arg Ser Arg Ser Pro Pro Ser  
 20 25 30

Leu Ile Thr Leu Lys Pro Ile Ser Leu Thr Pro Lys Arg Thr Val Ser  
 35 40 45

Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Leu	Ile	Thr	Lys	Glu	Asp	Asn	Asn	Leu	Lys
50						55					60				
Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Phe	Asp	Phe	Met	Ser	Tyr	Ile	Ile	Arg	Lys	Ala
65					70					75				80	
Asp	Ser	Val	Asn	Lys	Ala	Leu	Asp	Ser	Ala	Val	Pro	Leu	Arg	Glu	Pro
				85					90					95	
Leu	Lys	Ile	His	Glu	Ala	Met	Arg	Tyr	Ser	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Lys
			100					105					110		
Arg	Val	Arg	Pro	Val	Leu	Cys	Ile	Ala	Ala	Cys	Glu	Leu	Val	Gly	Gly
		115					120					125			
Glu	Glu	Ser	Leu	Ala	Met	Pro	Ala	Arg	Cys	Ala	Val	Glu	Met	Ile	His
	130					135					140				
Thr	Met	Ser	Leu	Ile	His	Asp	Asp	Leu	Pro	Cys	Met	Asp	Asn	Asp	Asp
145					150					155				160	
Leu	Arg	Arg	Gly	Lys	Pro	Thr	Asn	His	Lys	Val	Tyr	Gly	Glu	Asp	Val
				165					170					175	
Ala	Val	Leu	Ala	Gly	Asp	Ala	Leu	Leu	Ser	Phe	Ala	Phe	Glu	His	Leu
			180					185					190		
Ala	Ser	Ala	Thr	Ser	Ser	Glu	Val	Ser	Pro	Ala	Arg	Val	Val	Arg	Ala
		195					200					205			
Val	Gly	Glu	Leu	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Thr	Glu	Gly	Leu	Val	Ala	Gly
	210					215					220				
Gln	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Ser	Glu	Gly	Leu	Asp	Leu	Asn	Asn	Val	Gly
225					230					235				240	
Leu	Glu	His	Leu	Lys	Phe	Ile	His	Leu	His	Lys	Thr	Ala	Ala	Leu	Leu
				245					250					255	

Glu Ala Ser Ala Val Leu Gly Gly Ile Ile Gly Gly Gly Ser Asp Glu  
 260 265 270

Glu Ile Glu Arg Leu Arg Lys Phe Ala Arg Cys Ile Gly Leu Leu Phe  
 275 280 285

Gln Val Val Asp Asp Ile Leu Asp Val Thr Lys Ser Ser Gln Glu Leu  
 290 295 300

Gly Lys Thr Ala Gly Lys Asp Leu Ile Ala Asp Lys Leu Thr Tyr Pro  
 305 310 315 320

Lys Leu Met Gly Leu Glu Lys Ser Arg Glu Phe Ala Glu Lys Leu Asn  
 325 330 335

Thr Glu Ala Arg Asp Gln Leu Leu Gly Phe Asp Ser Asp Lys Val Ala  
 340 345 350

Pro Leu Leu Ala Leu Ala Asn Tyr Ile Ala Asn Arg Gln Asn  
 355 360 365

<210> 23

<211> 930

<212> DNA

<213> Erwinia uredovora

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (930)

<223>

<400> 23

atg aat aat ccg tcg tta ctc aat cat gcg gtc gaa acg atg gca gtt  
 Met Asn Asn Pro Ser Leu Leu Asn His Ala Val Glu Thr Met Ala Val  
 1 5 10 15

48



ggc tcg aaa agt ttt gcg aca gcc tca aag tta ttt gat gca aaa acc	96
Gly Ser Lys Ser Phe Ala Thr Ala Ser Lys Leu Phe Asp Ala Lys Thr	
20 25 30	
cgg cgc agc gta ctg atg ctc tac gcc tgg tgc cgc cat tgt gac gat	144
Arg Arg Ser Val Leu Met Leu Tyr Ala Trp Cys Arg His Cys Asp Asp	
35 40 45	
gtt att gac gat cag acg ctg ggc ttt cag gcc cgg cag cct gcc tta	192
Val Ile Asp Asp Gln Thr Leu Gly Phe Gln Ala Arg Gln Pro Ala Leu	
50 55 60	
caa acg ccc gaa caa cgt ctg atg caa ctt gag atg aaa acg cgc cag	240
Gln Thr Pro Glu Gln Arg Leu Met Gln Leu Glu Met Lys Thr Arg Gln	
65 70 75 80	
gcc tat gca gga tcg cag atg cac gaa ccg gcg ttt gcg gct ttt cag	288
Ala Tyr Ala Gly Ser Gln Met His Glu Pro Ala Phe Ala Ala Phe Gln	
85 90 95	
gaa gtg gct atg gct cat gat atc gcc ccg gct tac gcg ttt gat cat	336
Glu Val Ala Met Ala His Asp Ile Ala Pro Ala Tyr Ala Phe Asp His	
100 105 110	
ctg gaa ggc ttc gcc atg gat gta cgc gaa gcg caa tac agc caa ctg	384
Leu Glu Gly Phe Ala Met Asp Val Arg Glu Ala Gln Tyr Ser Gln Leu	
115 120 125	
gat gat acg ctg cgc tat tgc tat cac gtt gca ggc gtt gtc ggc ttg	432
Asp Asp Thr Leu Arg Tyr Cys Tyr His Val Ala Gly Val Val Gly Leu	
130 135 140	
atg atg gcg caa atc atg ggc gtg cgg gat aac gcc acg ctg gac cgc	480
Met Met Ala Gln Ile Met Gly Val Arg Asp Asn Ala Thr Leu Asp Arg	
145 150 155 160	
gcc tgt gac ctt ggg ctg gca ttt cag ttg acc aat att gct cgc gat	528
Ala Cys Asp Leu Gly Leu Ala Phe Gln Leu Thr Asn Ile Ala Arg Asp	
165 170 175	
att gtg gac gat gcg cat gcg ggc cgc tgt tat ctg ccg gca agc tgg	576
Ile Val Asp Asp Ala His Ala Gly Arg Cys Tyr Leu Pro Ala Ser Trp	
180 185 190	
ctg gag cat gaa ggt ctg aac aaa gag aat tat gcg gca cct gaa aac	624
Leu Glu His Glu Gly Leu Asn Lys Glu Asn Tyr Ala Ala Pro Glu Asn	
195 200 205	
cgt cag gcg ctg agc cgt atc gcc cgt cgt ttg gtg cag gaa gca gaa	672
Arg Gln Ala Leu Ser Arg Ile Ala Arg Arg Leu Val Gln Glu Ala Glu	
210 215 220	

cct tac tat ttg tct gcc aca gcc ggc ctg gca ggg ttg ccc ctg cgt 720  
 Pro Tyr Tyr Leu Ser Ala Thr Ala Gly Leu Ala Gly Leu Pro Leu Arg  
 225 230 235 240

tcc gcc tgg gca atc gct acg gcg aag cag gtt tac cgg aaa ata ggt 768  
 Ser Ala Trp Ala Ile Ala Thr Ala Lys Gln Val Tyr Arg Lys Ile Gly  
 245 250 255

gtc aaa gtt gaa cag gcc ggt cag caa gcc tgg gat cag cgg cag tca 816  
 Val Lys Val Glu Gln Ala Gly Gln Gln Ala Trp Asp Gln Arg Gln Ser  
 260 265 270

acg acc acg ccc gaa aaa tta acg ctg ctg ctg gcc gcc tct ggt cag 864  
 Thr Thr Thr Pro Glu Lys Leu Thr Leu Leu Leu Ala Ala Ser Gly Gln  
 275 280 285

gcc ctt act tcc cgg atg cgg gct cat cct ccc cgc cct gcg cat ctc 912  
 Ala Leu Thr Ser Arg Met Arg Ala His Pro Pro Arg Pro Ala His Leu  
 290 295 300

tgg cag cgc ccg ctc tag 930  
 Trp Gln Arg Pro Leu  
 305

<210> 24

<211> 309

<212> PRT

<213> Erwinia uredovora

<400> 24

Met Asn Asn Pro Ser Leu Leu Asn His Ala Val Glu Thr Met Ala Val  
 1 5 10 15

Gly Ser Lys Ser Phe Ala Thr Ala Ser Lys Leu Phe Asp Ala Lys Thr  
 20 25 30

Arg Arg Ser Val Leu Met Leu Tyr Ala Trp Cys Arg His Cys Asp Asp  
 35 40 45

Val Ile Asp Asp Gln Thr Leu Gly Phe Gln Ala Arg Gln Pro Ala Leu  
 50 55 60

Gln Thr Pro Glu Gln Arg Leu Met Gln Leu Glu Met Lys Thr Arg Gln  
65 70 75 80

Ala Tyr Ala Gly Ser Gln Met His Glu Pro Ala Phe Ala Ala Phe Gln  
85 90 95

Glu Val Ala Met Ala His Asp Ile Ala Pro Ala Tyr Ala Phe Asp His  
100 105 110

Leu Glu Gly Phe Ala Met Asp Val Arg Glu Ala Gln Tyr Ser Gln Leu  
115 120 125

Asp Asp Thr Leu Arg Tyr Cys Tyr His Val Ala Gly Val Val Gly Leu  
130 135 140

Met Met Ala Gln Ile Met Gly Val Arg Asp Asn Ala Thr Leu Asp Arg  
145 150 155 160

Ala Cys Asp Leu Gly Leu Ala Phe Gln Leu Thr Asn Ile Ala Arg Asp  
165 170 175

Ile Val Asp Asp Ala His Ala Gly Arg Cys Tyr Leu Pro Ala Ser Trp  
180 185 190

Leu Glu His Glu Gly Leu Asn Lys Glu Asn Tyr Ala Ala Pro Glu Asn  
195 200 205

Arg Gln Ala Leu Ser Arg Ile Ala Arg Arg Leu Val Gln Glu Ala Glu  
210 215 220

Pro Tyr Tyr Leu Ser Ala Thr Ala Gly Leu Ala Gly Leu Pro Leu Arg  
225 230 235 240

Ser Ala Trp Ala Ile Ala Thr Ala Lys Gln Val Tyr Arg Lys Ile Gly  
245 250 255

Val Lys Val Glu Gln Ala Gly Gln Gln Ala Trp Asp Gln Arg Gln Ser  
260 265 270

Thr Thr Thr Pro Glu Lys Leu Thr Leu Leu Leu Ala Ala Ser Gly Gln  
 275 280 285

Ala Leu Thr Ser Arg Met Arg Ala His Pro Pro Arg Pro Ala His Leu  
 290 295 300

Trp Gln Arg Pro Leu  
 305

<210> 25

<211> 1479

<212> DNA

<213> Erwinia uredovora

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1479)

<223>

<400> 25

atg aaa cca act acg gta att ggt gca ggc ttc ggt ggc ctg gca ctg 48  
 Met Lys Pro Thr Thr Val Ile Gly Ala Gly Phe Gly Gly Leu Ala Leu  
 1 5 10 15

gca att cgt cta caa gct gcg ggg atc ccc gtc tta ctg ctt gaa caa 96  
 Ala Ile Arg Leu Gln Ala Ala Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Glu Gln  
 20 25 30

cgt gat aaa ccc ggc ggt cgg gct tat gtc tac gag gat cag ggg ttt 144  
 Arg Asp Lys Pro Gly Gly Arg Ala Tyr Val Tyr Glu Asp Gln Gly Phe  
 35 40 45

acc ttt gat gca ggc ccg acg gtt atc acc gat ccc agt gcc att gaa 192  
 Thr Phe Asp Ala Gly Pro Thr Val Ile Thr Asp Pro Ser Ala Ile Glu  
 50 55 60

gaa ctg ttt gca ctg gca gga aaa cag tta aaa gag tat gtc gaa ctg 240

Glu	Leu	Phe	Ala	Leu	Ala	Gly	Lys	Gln	Leu	Lys	Glu	Tyr	Val	Glu	Leu	
65					70					75					80	
ctg	ccg	gtt	acg	ccg	ttt	tac	cgc	ctg	tgt	tgg	gag	tca	ggg	aag	gtc	288
Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Phe	Tyr	Arg	Leu	Cys	Trp	Glu	Ser	Gly	Lys	Val	
				85					90					95		
ttt	aat	tac	gat	aac	gat	caa	acc	cgg	ctc	gaa	gcg	cag	att	cag	cag	336
Phe	Asn	Tyr	Asp	Asn	Asp	Gln	Thr	Arg	Leu	Glu	Ala	Gln	Ile	Gln	Gln	
			100					105					110			
ttt	aat	ccc	cgc	gat	gtc	gaa	ggg	tat	cgt	cag	ttt	ctg	gac	tat	tca	384
Phe	Asn	Pro	Arg	Asp	Val	Glu	Gly	Tyr	Arg	Gln	Phe	Leu	Asp	Tyr	Ser	
		115					120					125				
cgc	gcg	gtg	ttt	aaa	gaa	ggc	tat	cta	aag	ctc	ggg	act	gtc	cct	ttt	432
Arg	Ala	Val	Phe	Lys	Glu	Gly	Tyr	Leu	Lys	Leu	Gly	Thr	Val	Pro	Phe	
	130					135					140					
tta	tcg	ttc	aga	gac	atg	ctt	cgc	gcc	gca	cct	caa	ctg	gcg	aaa	ctg	480
Leu	Ser	Phe	Arg	Asp	Met	Leu	Arg	Ala	Ala	Pro	Gln	Leu	Ala	Lys	Leu	
145					150					155					160	
cag	gca	tgg	aga	agc	gtt	tac	agt	aag	gtt	gcc	agt	tac	atc	gaa	gat	528
Gln	Ala	Trp	Arg	Ser	Val	Tyr	Ser	Lys	Val	Ala	Ser	Tyr	Ile	Glu	Asp	
				165					170					175		
gaa	cat	ctg	cgc	cag	gcg	ttt	tct	ttc	cac	tcg	ctg	ttg	gtg	ggc	ggc	576
Glu	His	Leu	Arg	Gln	Ala	Phe	Ser	Phe	His	Ser	Leu	Leu	Val	Gly	Gly	
			180					185					190			
aat	ccc	ttc	gcc	acc	tca	tcc	att	tat	acg	ttg	ata	cac	gcg	ctg	gag	624
Asn	Pro	Phe	Ala	Thr	Ser	Ser	Ile	Tyr	Thr	Leu	Ile	His	Ala	Leu	Glu	
		195					200					205				
cgt	gag	tgg	ggc	gtc	tgg	ttt	ccg	cgt	ggc	ggc	acc	ggc	gca	tta	gtt	672
Arg	Glu	Trp	Gly	Val	Trp	Phe	Pro	Arg	Gly	Gly	Thr	Gly	Ala	Leu	Val	
	210					215					220					
cag	ggg	atg	ata	aag	ctg	ttt	cag	gat	ctg	ggg	ggc	gaa	gtc	gtg	tta	720
Gln	Gly	Met	Ile	Lys	Leu	Phe	Gln	Asp	Leu	Gly	Gly	Glu	Val	Val	Leu	
225					230					235					240	
aac	gcc	aga	gtc	agc	cat	atg	gaa	acg	aca	gga	aac	aag	att	gaa	gcc	768
Asn	Ala	Arg	Val	Ser	His	Met	Glu	Thr	Thr	Gly	Asn	Lys	Ile	Glu	Ala	
				245					250					255		
gtg	cat	tta	gag	gac	ggg	cgc	agg	ttc	ctg	acg	caa	gcc	gtc	gcg	tca	816
Val	His	Leu	Glu	Asp	Gly	Arg	Arg	Phe	Leu	Thr	Gln	Ala	Val	Ala	Ser	
			260					265					270			
aat	gca	gat	gtg	gtt	cat	acc	tat	cgc	gac	ctg	tta	agc	cag	cac	c	

Asn Ala Asp Val Val His Thr Tyr Arg Asp Leu Leu Ser Gln His Pro	
275	280 285
gcc gcg gtt aag cag tcc aac aaa ctg cag act aag cgc atg agt aac	912
Ala Ala Val Lys Gln Ser Asn Lys Leu Gln Thr Lys Arg Met Ser Asn	
290	295 300
tct ctg ttt gtg ctc tat ttt ggt ttg aat cac cat cat gat cag ctc	960
Ser Leu Phe Val Leu Tyr Phe Gly Leu Asn His His His Asp Gln Leu	
305	310 315 320
gcg cat cac acg gtt tgt ttc ggc ccg cgt tac cgc gag ctg att gac	1008
Ala His His Thr Val Cys Phe Gly Pro Arg Tyr Arg Glu Leu Ile Asp	
	325 330 335
gaa att ttt aat cat gat ggc ctc gca gag gac ttc tca ctt tat ctg	1056
Glu Ile Phe Asn His Asp Gly Leu Ala Glu Asp Phe Ser Leu Tyr Leu	
	340 345 350
cac gcg ccc tgt gtc acg gat tcg tca ctg gcg cct gaa ggt tgc ggc	1104
His Ala Pro Cys Val Thr Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly Cys Gly	
	355 360 365
agt tac tat gtg ttg gcg ccg gtg ccg cat tta ggc acc gcg aac ctc	1152
Ser Tyr Tyr Val Leu Ala Pro Val Pro His Leu Gly Thr Ala Asn Leu	
	370 375 380
gac tgg acg gtt gag ggg cca aaa cta cgc gac cgt att ttt gcg tac	1200
Asp Trp Thr Val Glu Gly Pro Lys Leu Arg Asp Arg Ile Phe Ala Tyr	
	385 390 395 400
ctt gag cag cat tac atg cct ggc tta cgg agt cag ctg gtc acg cac	1248
Leu Glu Gln His Tyr Met Pro Gly Leu Arg Ser Gln Leu Val Thr His	
	405 410 415
cgg atg ttt acg ccg ttt gat ttt cgc gac cag ctt aat gcc tat cat	1296
Arg Met Phe Thr Pro Phe Asp Phe Arg Asp Gln Leu Asn Ala Tyr His	
	420 425 430
ggc tca gcc ttt tct gtg gag ccc gtt ctt acc cag agc gcc tgg ttt	1344
Gly Ser Ala Phe Ser Val Glu Pro Val Leu Thr Gln Ser Ala Trp Phe	
	435 440 445
cgg ccg cat aac cgc gat aaa acc att act aat ctc tac ctg gtc ggc	1392
Arg Pro His Asn Arg Asp Lys Thr Ile Thr Asn Leu Tyr Leu Val Gly	
	450 455 460
gca ggc acg cat ccc ggc gca ggc att cct ggc gtc atc ggc tcg gca	1440
Ala Gly Thr His Pro Gly Ala Gly Ile Pro Gly Val Ile Gly Ser Ala	
	465 470 475 480
aaa gcg aca gca ggt ttg atg ctg gag gat ctg ata tga	1479

Lys Ala Thr Ala Gly Leu Met Leu Glu Asp Leu Ile  
485 490

<210> 26

<211> 492

<212> PRT

<213> Erwinia uredovora

<400> 26

Met Lys Pro Thr Thr Val Ile Gly Ala Gly Phe Gly Gly Leu Ala Leu  
1 5 10 15

Ala Ile Arg Leu Gln Ala Ala Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Glu Gln  
20 25 30

Arg Asp Lys Pro Gly Gly Arg Ala Tyr Val Tyr Glu Asp Gln Gly Phe  
35 40 45

Thr Phe Asp Ala Gly Pro Thr Val Ile Thr Asp Pro Ser Ala Ile Glu  
50 55 60

Glu Leu Phe Ala Leu Ala Gly Lys Gln Leu Lys Glu Tyr Val Glu Leu  
65 70 75 80

Leu Pro Val Thr Pro Phe Tyr Arg Leu Cys Trp Glu Ser Gly Lys Val  
85 90 95

Phe Asn Tyr Asp Asn Asp Gln Thr Arg Leu Glu Ala Gln Ile Gln Gln  
100 105 110

Phe Asn Pro Arg Asp Val Glu Gly Tyr Arg Gln Phe Leu Asp Tyr Ser  
115 120 125

Arg Ala Val Phe Lys Glu Gly Tyr Leu Lys Leu Gly Thr Val Pro Phe  
130 135 140

Leu Ser Phe Arg Asp Met Leu Arg Ala Ala Pro Gln Leu Ala Lys Leu  
145 150 155 160

Gln Ala Trp Arg Ser Val Tyr Ser Lys Val Ala Ser Tyr Ile Glu Asp  
165 170 175

Glu His Leu Arg Gln Ala Phe Ser Phe His Ser Leu Leu Val Gly Gly  
180 185 190

Asn Pro Phe Ala Thr Ser Ser Ile Tyr Thr Leu Ile His Ala Leu Glu  
195 200 205

Arg Glu Trp Gly Val Trp Phe Pro Arg Gly Gly Thr Gly Ala Leu Val  
210 215 220

Gln Gly Met Ile Lys Leu Phe Gln Asp Leu Gly Gly Glu Val Val Leu  
225 230 235 240

Asn Ala Arg Val Ser His Met Glu Thr Thr Gly Asn Lys Ile Glu Ala  
245 250 255

Val His Leu Glu Asp Gly Arg Arg Phe Leu Thr Gln Ala Val Ala Ser  
260 265 270

Asn Ala Asp Val Val His Thr Tyr Arg Asp Leu Leu Ser Gln His Pro  
275 280 285

Ala Ala Val Lys Gln Ser Asn Lys Leu Gln Thr Lys Arg Met Ser Asn  
290 295 300

Ser Leu Phe Val Leu Tyr Phe Gly Leu Asn His His His Asp Gln Leu  
305 310 315 320

Ala His His Thr Val Cys Phe Gly Pro Arg Tyr Arg Glu Leu Ile Asp  
325 330 335

Glu Ile Phe Asn His Asp Gly Leu Ala Glu Asp Phe Ser Leu Tyr Leu  
340 345 350



His Ala Pro Cys Val Thr Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly Cys Gly  
355 360 365

Ser Tyr Tyr Val Leu Ala Pro Val Pro His Leu Gly Thr Ala Asn Leu  
370 375 380

Asp Trp Thr Val Glu Gly Pro Lys Leu Arg Asp Arg Ile Phe Ala Tyr  
385 390 395 400

Leu Glu Gln His Tyr Met Pro Gly Leu Arg Ser Gln Leu Val Thr His  
405 410 415

Arg Met Phe Thr Pro Phe Asp Phe Arg Asp Gln Leu Asn Ala Tyr His  
420 425 430

Gly Ser Ala Phe Ser Val Glu Pro Val Leu Thr Gln Ser Ala Trp Phe  
435 440 445

Arg Pro His Asn Arg Asp Lys Thr Ile Thr Asn Leu Tyr Leu Val Gly  
450 455 460

Ala Gly Thr His Pro Gly Ala Gly Ile Pro Gly Val Ile Gly Ser Ala  
465 470 475 480

Lys Ala Thr Ala Gly Leu Met Leu Glu Asp Leu Ile  
485 490

<210> 27

<211> 1725

<212> DNA

<213> Narcissus pseudonarcissus

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1725)

**<223>**

**<400> 27**

atg gct tct tcc act tgt tta att cat tct tcc tct ttt ggg gtt gga 48  
Met Ala Ser Ser Thr Cys Leu Ile His Ser Ser Ser Phe Gly Val Gly

**1                      5                      10                      15**

gga aag aaa gtg aag atg aac acg atg att cga tcg aag ttg ttt tca 96  
Gly Lys Lys Val Lys Met Asn Thr. Met Ile Arg Ser Lys Leu Phe Ser

**20                      25                      30**

att cgg tcg gct ttg gac act aag gtg tct gat atg agc gtc aat gct 144  
Ile Arg Ser Ala Leu Asp Thr Lys Val Ser Asp Met Ser Val Asn Ala

**35                      40                      45**

cca aaa gga ttg ttt cca cca gag cct gag cac tac agg ggg cca aag 192  
Pro Lys Gly Leu Phe Pro Pro Glu Pro Glu His Tyr Arg Gly Pro Lys

[illegible]

ctt aaa gtg gct atc att gga gct ggg ctc gct ggc atg tca act gca 240  
Leu Lys Val Ala Ile Ile Gly Ala Gly Leu Ala Gly Met Ser Thr Ala

65	70	75	80
----	----	----	----

gtg gag ctt ttg gat caa ggg cat gag gtt gac ata tat gaa tcc aga 288  
Val Glu Leu Leu Asp Gln Gly His Glu Val Asp Ile Tyr Glu Ser Arg

85 90 95

caa ttt att ggt ggt aaa gtc ggt tct ttt gta gat aag cgt gga aac 336  
Gln Phe Ile Gly Gly Lys Val Gly Ser Phe Val Asp Lys Arg Gly Asn

100	105	110
-----	-----	-----

cat att gaa atg gga ctc cat gtg ttt ttt ggt tgc tat aac aat ctt 384  
His Ile Glu Met Gly Leu His Val Phe Phe Gly Cys Tyr Asn Asn Leu

**115                      120                      125**

ttc aga ctt atg aaa aag gta ggt gca gat gaa aat tta ctg gtg aag 432  
Phe Arg Leu Met Lys Lys Val Gly Ala Asp Glu Asn Leu Leu Val Lys

130 135 140

gat cat act cat acc ttt gta aac cga ggt gga gaa att ggt gaa ctt 480  
Asp His Thr His Thr Phe Val Asn Arg Gly Gly Glu Ile Gly Glu Leu

**145                      150                      155                      160**

gat ttc cga ctt ccg atg ggt gca cca tta cat ggt att cgt gca ttt 528  
Asp Phe Arg Leu Pro Met Gly Ala Pro Leu His Gly Ile Arg Ala Phe

165 170 175

cta aca act aat caa ctg aag cct tat gat aaa gca agg aat gct gtg 576  
Leu Thr Thr Asn Gln Leu Lys Pro Tyr Asp Lys Ala Arg Asn Ala Val

180 185 190

gct ctt gcc ctt agc cca gtt gta cgt gct ctt att gat cca aat ggt	624
Ala Leu Ala Leu Ser Pro Val Val Arg Ala Leu Ile Asp Pro Asn Gly	
195 200 205	
gca atg cag gat ata agg aac tta gat aat att agc ttt tct gat tgg	672
Ala Met Gln Asp Ile Arg Asn Leu Asp Asn Ile Ser Phe Ser Asp Trp	
210 215 220	
ttc tta tcc aaa ggc ggt acc cgc atg agc atc caa agg atg tgg gat	720
Phe Leu Ser Lys Gly Gly Thr Arg Met Ser Ile Gln Arg Met Trp Asp	
225 230 235 240	
cca gtt gct tat gcc ctg gga ttt att gac tgt gat aat atc agt gcc	768
Pro Val Ala Tyr Ala Leu Gly Phe Ile Asp Cys Asp Asn Ile Ser Ala	
245 250 255	
cgt tgt atg ctt act ata ttt tct cta ttt gct act aag aca gaa gct	816
Arg Cys Met Leu Thr Ile Phe Ser Leu Phe Ala Thr Lys Thr Glu Ala	
260 265 270	
tct ctg ttg cgt atg ttg aag ggt tcg cct gat gtt tac tta agc ggt	864
Ser Leu Leu Arg Met Leu Lys Gly Ser Pro Asp Val Tyr Leu Ser Gly	
275 280 285	
cct ata aga aag tat att aca gat aaa ggt gga agg ttt cac cta agg	912
Pro Ile Arg Lys Tyr Ile Thr Asp Lys Gly Gly Arg Phe His Leu Arg	
290 295 300	
tgg ggg tgt aga gag ata ctt tat gat gaa cta tca aat ggc gac aca	960
Trp Gly Cys Arg Glu Ile Leu Tyr Asp Glu Leu Ser Asn Gly Asp Thr	
305 310 315 320	
tat atc aca ggc att gca atg tcg aag gct acc aat aaa aaa ctt gtg	1008
Tyr Ile Thr Gly Ile Ala Met Ser Lys Ala Thr Asn Lys Lys Leu Val	
325 330 335	
aaa gct gac gtg tat gtt gca gca tgt gat gtt cct gga ata aaa agg	1056
Lys Ala Asp Val Tyr Val Ala Ala Cys Asp Val Pro Gly Ile Lys Arg	
340 345 350	
ttg atc cca tcg gag tgg aga gaa tgg gat cta ttt gac aat atc tat	1104
Leu Ile Pro Ser Glu Trp Arg Glu Trp Asp Leu Phe Asp Asn Ile Tyr	
355 360 365	
aaa cta gtt gga gtt cca gtt gtc act gtt cag ctt agg tac aat ggt	1152
Lys Leu Val Gly Val Pro Val Val Thr Val Gln Leu Arg Tyr Asn Gly	
370 375 380	
tgg gtg aca gag atg caa gat ctg gaa aaa tca agg cag ttg aga gct	1200
Trp Val Thr Glu Met Gln Asp Leu Glu Lys Ser Arg Gln Leu Arg Ala	
385 390 395 400	

gca gta gga ttg gat aat ctt ctt tat act cca gat gca gac ttt tct	1248
Ala Val Gly Leu Asp Asn Leu Leu Tyr Thr Pro Asp Ala Asp Phe Ser	
405 410 415	
tgt ttt tct gat ctt gca ctc tcg tcg cct gaa gat tat tat att gaa	1296
Cys Phe Ser Asp Leu Ala Leu Ser Ser Pro Glu Asp Tyr Tyr Ile Glu	
420 425 430	
gga caa ggg tcc cta ata cag gct gtt ctc acg cca ggg gat cca tac	1344
Gly Gln Gly Ser Leu Ile Gln Ala Val Leu Thr Pro Gly Asp Pro Tyr	
435 440 445	
atg ccc cta cct aat gat gca att ata gaa aga gtt cgg aaa cag gtt	1392
Met Pro Leu Pro Asn Asp Ala Ile Ile Glu Arg Val Arg Lys Gln Val	
450 455 460	
ttg gat tta ttc cca tcc tct caa ggc ctg gaa gtt cta tgg tct tcg	1440
Leu Asp Leu Phe Pro Ser Ser Gln Gly Leu Glu Val Leu Trp Ser Ser	
465 470 475 480	
gtg gtt aaa atc gga caa tcc cta tat cgg gag ggg cct gga aag gac	1488
Val Val Lys Ile Gly Gln Ser Leu Tyr Arg Glu Gly Pro Gly Lys Asp	
485 490 495	
cca ttc aga cct gat cag aag aca cca gta aaa aat ttc ttc ctt gca	1536
Pro Phe Arg Pro Asp Gln Lys Thr Pro Val Lys Asn Phe Phe Leu Ala	
500 505 510	
ggg tca tac acc aaa cag gat tac att gac agt atg gaa gga gcg acc	1584
Gly Ser Tyr Thr Lys Gln Asp Tyr Ile Asp Ser Met Glu Gly Ala Thr	
515 520 525	
cta tcg ggg aga caa gca gct gca tat atc tgc agc gcc ggt gaa gat	1632
Leu Ser Gly Arg Gln Ala Ala Ala Tyr Ile Cys Ser Ala Gly Glu Asp	
530 535 540	
ctg gca gca ctt cgc aag aag atc gct gct gat cat cca gag caa ctg	1680
Leu Ala Ala Leu Arg Lys Lys Ile Ala Ala Asp His Pro Glu Gln Leu	
545 550 555 560	
atc aac aaa gat tct aac gtg tcg gat gaa ctg agt ctc gta taa	1725
Ile Asn Lys Asp Ser Asn Val Ser Asp Glu Leu Ser Leu Val	
565 570	

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 574

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Narcissus pseudonarcissus

&lt;400&gt; 28

Met Ala Ser Ser Thr Cys Leu Ile His Ser Ser Ser Phe Gly Val Gly  
1 5 10 15

Gly Lys Lys Val Lys Met Asn Thr Met Ile Arg Ser Lys Leu Phe Ser  
20 25 30

Ile Arg Ser Ala Leu Asp Thr Lys Val Ser Asp Met Ser Val Asn Ala  
35 40 45

Pro Lys Gly Leu Phe Pro Pro Glu Pro Glu His Tyr Arg Gly Pro Lys  
50 55 60

Leu Lys Val Ala Ile Ile Gly Ala Gly Leu Ala Gly Met Ser Thr Ala  
65 70 75 80

Val Glu Leu Leu Asp Gln Gly His Glu Val Asp Ile Tyr Glu Ser Arg  
85 90 95

Gln Phe Ile Gly Gly Lys Val Gly Ser Phe Val Asp Lys Arg Gly Asn  
100 105 110

His Ile Glu Met Gly Leu His Val Phe Phe Gly Cys Tyr Asn Asn Leu  
115 120 125

Phe Arg Leu Met Lys Lys Val Gly Ala Asp Glu Asn Leu Leu Val Lys  
130 135 140

Asp His Thr His Thr Phe Val Asn Arg Gly Gly Glu Ile Gly Glu Leu  
145 150 155 160

Asp Phe Arg Leu Pro Met Gly Ala Pro Leu His Gly Ile Arg Ala Phe  
165 170 175

Leu Thr Thr Asn Gln Leu Lys Pro Tyr Asp Lys Ala Arg Asn Ala Val  
180 185 190

Ala Leu Ala Leu Ser Pro Val Val Arg Ala Leu Ile Asp Pro Asn Gly  
195 200 205

Ala Met Gln Asp Ile Arg Asn Leu Asp Asn Ile Ser Phe Ser Asp Trp  
210 215 220

Phe Leu Ser Lys Gly Gly Thr Arg Met Ser Ile Gln Arg Met Trp Asp  
225 230 235 240

Pro Val Ala Tyr Ala Leu Gly Phe Ile Asp Cys Asp Asn Ile Ser Ala  
245 250 255

Arg Cys Met Leu Thr Ile Phe Ser Leu Phe Ala Thr Lys Thr Glu Ala  
260 265 270

Ser Leu Leu Arg Met Leu Lys Gly Ser Pro Asp Val Tyr Leu Ser Gly  
275 280 285

Pro Ile Arg Lys Tyr Ile Thr Asp Lys Gly Gly Arg Phe His Leu Arg  
290 295 300

Trp Gly Cys Arg Glu Ile Leu Tyr Asp Glu Leu Ser Asn Gly Asp Thr  
305 310 315 320

Tyr Ile Thr Gly Ile Ala Met Ser Lys Ala Thr Asn Lys Lys Leu Val  
325 330 335

Lys Ala Asp Val Tyr Val Ala Ala Cys Asp Val Pro Gly Ile Lys Arg  
340 345 350

Leu Ile Pro Ser Glu Trp Arg Glu Trp Asp Leu Phe Asp Asn Ile Tyr  
355 360 365

Lys Leu Val Gly Val Pro Val Val Thr Val Gln Leu Arg Tyr Asn Gly  
370 375 380

Trp Val Thr Glu Met Gln Asp Leu Glu Lys Ser Arg Gln Leu Arg Ala  
385 390 395 400

Ala Val Gly Leu Asp Asn Leu Leu Tyr Thr Pro Asp Ala Asp Phe Ser  
 405 410 415

Cys Phe Ser Asp Leu Ala Leu Ser Ser Pro Glu Asp Tyr Tyr Ile Glu  
 420 425 430

Gly Gln Gly Ser Leu Ile Gln Ala Val Leu Thr Pro Gly Asp Pro Tyr  
 435 440 445

Met Pro Leu Pro Asn Asp Ala Ile Ile Glu Arg Val Arg Lys Gln Val  
 450 455 460

Leu Asp Leu Phe Pro Ser Ser Gln Gly Leu Glu Val Leu Trp Ser Ser  
 465 470 475 480

Val Val Lys Ile Gly Gln Ser Leu Tyr Arg Glu Gly Pro Gly Lys Asp  
 485 490 495

Pro Phe Arg Pro Asp Gln Lys Thr Pro Val Lys Asn Phe Phe Leu Ala  
 500 505 510

Gly Ser Tyr Thr Lys Gln Asp Tyr Ile Asp Ser Met Glu Gly Ala Thr  
 515 520 525

Leu Ser Gly Arg Gln Ala Ala Ala Tyr Ile Cys Ser Ala Gly Glu Asp  
 530 535 540

Leu Ala Ala Leu Arg Lys Lys Ile Ala Ala Asp His Pro Glu Gln Leu  
 545 550 555 560

Ile Asn Lys Asp Ser Asn Val Ser Asp Glu Leu Ser Leu Val  
 565 570

<210> 29

<211> 1848

<212> DNA

<213> *Lycopersicon esculentum*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(1848)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 29

atg tgt acc ttg agt ttt atg tat cct aat tca ctt ctt gat ggt acc	48
Met Cys Thr Leu Ser Phe Met Tyr Pro Asn Ser Leu Leu Asp Gly Thr	
1 5 10 15	
tgc aag act gta gct ttg ggt gat agc aaa cca aga tac aat aaa cag	96
Cys Lys Thr Val Ala Leu Gly Asp Ser Lys Pro Arg Tyr Asn Lys Gln	
20 25 30	
aga agt tct tgt ttt gac cct ttg ata att gga aat tgt act gat cag	144
Arg Ser Ser Cys Phe Asp Pro Leu Ile Ile Gly Asn Cys Thr Asp Gln	
35 40 45	
cag cag ctt tgt ggc ttg agt tgg ggg gtg gac aag gct aag gga aga	192
Gln Gln Leu Cys Gly Leu Ser Trp Gly Val Asp Lys Ala Lys Gly Arg	
50 55 60	
aga ggg ggt act gtt tcc aat ttg aaa gca gtt gta gat gta gac aaa	240
Arg Gly Gly Thr Val Ser Asn Leu Lys Ala Val Val Asp Val Asp Lys	
65 70 75 80	
aga gtg gag agc tat ggc agt agt gat gta gaa gga aat gag agt ggc	288
Arg Val Glu Ser Tyr Gly Ser Ser Asp Val Glu Gly Asn Glu Ser Gly	
85 90 95	
agc tat gat gcc att gtt ata ggt tca gga ata ggt gga ttg gtg gca	336
Ser Tyr Asp Ala Ile Val Ile Gly Ser Gly Ile Gly Gly Leu Val Ala	
100 105 110	
gcg acg cag ctg gcg gtt aag gga gct aag gtt tta gtt ctg gag aag	384
Ala Thr Gln Leu Ala Val Lys Gly Ala Lys Val Leu Val Leu Glu Lys	
115 120 125	
tat gtt att cct ggt gga agc tct ggc ttt tac gag agg gat ggt tat	432
Tyr Val Ile Pro Gly Gly Ser Ser Gly Phe Tyr Glu Arg Asp Gly Tyr	
130 135 140	
aag ttt gat gtt ggt tca tca gtg atg ttt gga ttc agt gat aag gga	480





Ile Leu Asp Asn Gly Lys Ala Val Gly Val Lys Leu Ser Asp Gly Arg	
355 360 365	
aag ttt tat gct aaa acc ata gta tcg aat gct acc aga tgg gat act	1152
Lys Phe Tyr Ala Lys Thr Ile Val Ser Asn Ala Thr Arg Trp Asp Thr	
370 375 380	
ttt gga aag ctt tta aaa gct gag aat ctg cca aaa gaa gaa gaa aat	1200
Phe Gly Lys Leu Leu Lys Ala Glu Asn Leu Pro Lys Glu Glu Glu Asn	
385 390 395 400	
ttc cag aaa gct tat gta aaa gca cct tct ttt ctt tct att cat atg	1248
Phe Gln Lys Ala Tyr Val Lys Ala Pro Ser Phe Leu Ser Ile His Met	
405 410 415	
gga gtt aaa gca gat gta ctc cca cca gac aca gat tgt cac cat ttt	1296
Gly Val Lys Ala Asp Val Leu Pro Pro Asp Thr Asp Cys His His Phe	
420 425 430	
gtc ctc gag gat gat tgg aca aat ttg gag aaa cca tat gga agt ata	1344
Val Leu Glu Asp Asp Trp Thr Asn Leu Glu Lys Pro Tyr Gly Ser Ile	
435 440 445	
ttc ttg agt att cca aca gtt ctt gat tcc tca ttg gcc cca gaa gga	1392
Phe Leu Ser Ile Pro Thr Val Leu Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly	
450 455 460	
cac cat att ctt cac att ttt aca aca tcg agc att gaa gat tgg gag	1440
His His Ile Leu His Ile Phe Thr Thr Ser Ser Ile Glu Asp Trp Glu	
465 470 475 480	
gga ctc tct ccg aaa gac tat gaa gcg aag aaa gag gtt gtt gct gaa	1488
Gly Leu Ser Pro Lys Asp Tyr Glu Ala Lys Lys Glu Val Val Ala Glu	
485 490 495	
agg att ata agc aga ctt gaa aaa aca ctc ttc cca ggg ctt aag tca	1536
Arg Ile Ile Ser Arg Leu Glu Lys Thr Leu Phe Pro Gly Leu Lys Ser	
500 505 510	
tct att ctc ttt aag gag gtg gga act cca aag acc cac aga cga tac	1584
Ser Ile Leu Phe Lys Glu Val Gly Thr Pro Lys Thr His Arg Arg Tyr	
515 520 525	
ctt gct cgt gat agt ggt acc tat gga cca atg cca cgc gga aca cct	1632
Leu Ala Arg Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Pro Met Pro Arg Gly Thr Pro	
530 535 540	
aag gga ctc ctg gga atg cct ttc aat acc act gct ata gat ggt cta	1680
Lys Gly Leu Leu Gly Met Pro Phe Asn Thr Thr Ala Ile Asp Gly Leu	
545 550 555 560	
tat tgt gtt ggc gat agt tgc ttc cca gga caa ggt gtt ata gct gta	1728

Tyr Cys Val Gly Asp Ser Cys Phe Pro Gly Gln Gly Val Ile Ala Val  
 565 570 575  
 gcc ttt tca gga gta atg tgc gct cat cgt gtt gca gct gac tta ggg 1776  
 Ala Phe Ser Gly Val Met Cys Ala His Arg Val Ala Ala Asp Leu Gly  
 580 585 590  
 ttt gaa aaa aaa tca gat gtg ctg gac agt gct ctt ctt aga cta ctt 1824  
 Phe Glu Lys Lys Ser Asp Val Leu Asp Ser Ala Leu Leu Arg Leu Leu  
 595 600 605  
 ggt tgg tta agg aca cta gca tga 1848  
 Gly Trp Leu Arg Thr Leu Ala  
 610 615

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 615

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Lycopersicon esculentum

&lt;400&gt; 30

Met Cys Thr Leu Ser Phe Met Tyr Pro Asn Ser Leu Leu Asp Gly Thr  
 1 5 10 15

Cys Lys Thr Val Ala Leu Gly Asp Ser Lys Pro Arg Tyr Asn Lys Gln  
 20 25 30

Arg Ser Ser Cys Phe Asp Pro Leu Ile Ile Gly Asn Cys Thr Asp Gln  
 35 40 45

Gln Gln Leu Cys Gly Leu Ser Trp Gly Val Asp Lys Ala Lys Gly Arg  
 50 55 60

Arg Gly Gly Thr Val Ser Asn Leu Lys Ala Val Val Asp Val Asp Lys  
 65 70 75 80

Arg Val Glu Ser Tyr Gly Ser Ser Asp Val Glu Gly Asn Glu Ser Gly  
 85 90 95

Ser Tyr Asp Ala Ile Val Ile Gly Ser Gly Ile Gly Gly Leu Val Ala  
100 105 110

Ala Thr Gln Leu Ala Val Lys Gly Ala Lys Val Leu Val Leu Glu Lys  
115 120 125

Tyr Val Ile Pro Gly Gly Ser Ser Gly Phe Tyr Glu Arg Asp Gly Tyr  
130 135 140

Lys Phe Asp Val Gly Ser Ser Val Met Phe Gly Phe Ser Asp Lys Gly  
145 150 155 160

Asn Leu Asn Leu Ile Thr Gln Ala Leu Ala Ala Val Gly Arg Lys Leu  
165 170 175

Glu Val Ile Pro Asp Pro Thr Thr Val His Phe His Leu Pro Asn Asp  
180 185 190

Leu Ser Val Arg Ile His Arg Glu Tyr Asp Asp Phe Ile Glu Glu Leu  
195 200 205

Val Ser Lys Phe Pro His Glu Lys Glu Gly Ile Ile Lys Phe Tyr Ser  
210 215 220

Glu Cys Trp Lys Ile Phe Asn Ser Leu Asn Ser Leu Glu Leu Lys Ser  
225 230 235 240

Leu Glu Glu Pro Ile Tyr Leu Phe Gly Gln Phe Phe Lys Lys Pro Leu  
245 250 255

Glu Cys Leu Thr Leu Ala Tyr Tyr Leu Pro Gln Asn Ala Gly Ser Ile  
260 265 270

Ala Arg Lys Tyr Ile Arg Asp Pro Gly Leu Leu Ser Phe Ile Asp Ala  
275 280 285

Glu Cys Phe Ile Val Ser Thr Val Asn Ala Leu Gln Thr Pro Met Ile  
290 295 300

Asn Ala Ser Met Val Leu Cys Asp Arg His Phe Gly Gly Ile Asn Tyr  
305 310 315 320

Pro Val Gly Gly Val Gly Glu Ile Ala Lys Ser Leu Ala Lys Gly Leu  
325 330 335

Asp Asp His Gly Ser Gln Ile Leu Tyr Arg Ala Asn Val Thr Ser Ile  
340 345 350

Ile Leu Asp Asn Gly Lys Ala Val Gly Val Lys Leu Ser Asp Gly Arg  
355 360 365

Lys Phe Tyr Ala Lys Thr Ile Val Ser Asn Ala Thr Arg Trp Asp Thr  
370 375 380

Phe Gly Lys Leu Leu Lys Ala Glu Asn Leu Pro Lys Glu Glu Glu Asn  
385 390 395 400

Phe Gln Lys Ala Tyr Val Lys Ala Pro Ser Phe Leu Ser Ile His Met  
405 410 415

Gly Val Lys Ala Asp Val Leu Pro Pro Asp Thr Asp Cys His His Phe  
420 425 430

Val Leu Glu Asp Asp Trp Thr Asn Leu Glu Lys Pro Tyr Gly Ser Ile  
435 440 445

Phe Leu Ser Ile Pro Thr Val Leu Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly  
450 455 460

His His Ile Leu His Ile Phe Thr Thr Ser Ser Ile Glu Asp Trp Glu  
465 470 475 480

Gly Leu Ser Pro Lys Asp Tyr Glu Ala Lys Lys Glu Val Val Ala Glu  
485 490 495

Arg Ile Ile Ser Arg Leu Glu Lys Thr Leu Phe Pro Gly Leu Lys Ser  
500 505 510

Ser Ile Leu Phe Lys Glu Val Gly Thr Pro Lys Thr His Arg Arg Tyr  
 515 520 525

Leu Ala Arg Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Pro Met Pro Arg Gly Thr Pro  
 530 535 540

Lys Gly Leu Leu Gly Met Pro Phe Asn Thr Thr Ala Ile Asp Gly Leu  
 545 550 555 560

Tyr Cys Val Gly Asp Ser Cys Phe Pro Gly Gln Gly Val Ile Ala Val  
 565 570 575

Ala Phe Ser Gly Val Met Cys Ala His Arg Val Ala Ala Asp Leu Gly  
 580 585 590

Phe Glu Lys Lys Ser Asp Val Leu Asp Ser Ala Leu Leu Arg Leu Leu  
 595 600 605

Gly Trp Leu Arg Thr Leu Ala  
 610 615

<210> 31

<211> 1233

<212> DNA

<213> Tagetes erecta

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1233)

<223>

<400> 31

atg gcc aca cac aaa ctc ctt caa ttc acc acc aat ctc cca cca tct  
 Met Ala Thr His Lys Leu Leu Gln Phe Thr Thr Asn Leu Pro Pro Ser  
 1 5 10 15

tct tct tca atc tct act ggc tgt tca ctc tcc ccc ttc ttc ctc aaa	96
Ser Ser Ser Ile Ser Thr Gly Cys Ser Leu Ser Pro Phe Phe Leu Lys	
20 25 30	
tca tct tct cat tcc cct aac cct cgc cga cac cgc cgc tcc gcc gta	144
Ser Ser Ser His Ser Pro Asn Pro Arg Arg His Arg Arg Ser Ala Val	
35 40 45	
tgc tgc tct ttc gcc tca ctc gac tct gca aaa atc aaa gtc gtt ggc	192
Cys Cys Ser Phe Ala Ser Leu Asp Ser Ala Lys Ile Lys Val Val Gly	
50 55 60	
gtc ggt ggt ggt ggc aac aat gcc gtt aac cgc atg att ggt agc ggc	240
Val Gly Gly Gly Gly Asn Asn Ala Val Asn Arg Met Ile Gly Ser Gly	
65 70 75 80	
tta cag ggt gtt gat ttt tac gcc att aac acg gac tca caa gcg ctt	288
Leu Gln Gly Val Asp Phe Tyr Ala Ile Asn Thr Asp Ser Gln Ala Leu	
85 90 95	
ctg caa tct gtt gca cat aac cct att caa att ggg gag ctt ttg act	336
Leu Gln Ser Val Ala His Asn Pro Ile Gln Ile Gly Glu Leu Leu Thr	
100 105 110	
cgt gga tta ggt act ggt ggg aac ccg ctt ttg gga gaa cag gct gcg	384
Arg Gly Leu Gly Thr Gly Gly Asn Pro Leu Leu Gly Glu Gln Ala Ala	
115 120 125	
gag gag tcg aag gaa gcg att ggg aat gcg ctt aaa ggg tcg gat ctt	432
Glu Glu Ser Lys Glu Ala Ile Gly Asn Ala Leu Lys Gly Ser Asp Leu	
130 135 140	
gtg ttt ata aca gca ggt atg ggt ggt ggg acg ggt tcg ggt gct gct	480
Val Phe Ile Thr Ala Gly Met Gly Gly Gly Thr Gly Ser Gly Ala Ala	
145 150 155 160	
cca gtt gta gcg cag ata gcg aaa gaa gca ggg tat tta act gtt ggt	528
Pro Val Val Ala Gln Ile Ala Lys Glu Ala Gly Tyr Leu Thr Val Gly	
165 170 175	
gtt gta acg tac cca ttc agc ttt gaa ggc cgt aaa aga tca gta cag	576
Val Val Thr Tyr Pro Phe Ser Phe Glu Gly Arg Lys Arg Ser Val Gln	
180 185 190	
gcg tta gag gct att gag aag ctg caa aag aac gtt gac aca ctt ata	624
Ala Leu Glu Ala Ile Glu Lys Leu Gln Lys Asn Val Asp Thr Leu Ile	
195 200 205	
gtg att cca aat gac cgt ttg ctg gat att gct gat gaa aac acg cct	672
Val Ile Pro Asn Asp Arg Leu Leu Asp Ile Ala Asp Glu Asn Thr Pro	
210 215 220	

ctt cag gat gct ttt ctt ctt gct gat gat gta ctc cgc caa gga gtt 720  
 Leu Gln Asp Ala Phe Leu Leu Ala Asp Asp Val Leu Arg Gln Gly Val  
 225 230 235 240

caa gga atc tca gat ata att aca ata cct ggg ctg gta aat gtg gac 768  
 Gln Gly Ile Ser Asp Ile Ile Thr Ile Pro Gly Leu Val Asn Val Asp  
 245 250 255

ttt gca gac gtt aaa gca gtc atg aaa gat tct gga act gca atg ctt 816  
 Phe Ala Asp Val Lys Ala Val Met Lys Asp Ser Gly Thr Ala Met Leu  
 260 265 270

ggt gtc ggt gtt tcc tca agt aaa aac cga gct gaa gaa gca gct gaa 864  
 Gly Val Gly Val Ser Ser Ser Lys Asn Arg Ala Glu Glu Ala Ala Glu  
 275 280 285

caa gca act ctt gct cct ttg att gga tca tca att caa tct gct aca 912  
 Gln Ala Thr Leu Ala Pro Leu Ile Gly Ser Ser Ile Gln Ser Ala Thr  
 290 295 300

ggt gtt gtt tat aat att acc gga ggg aag gac ata act cta caa gaa 960  
 Gly Val Val Tyr Asn Ile Thr Gly Gly Lys Asp Ile Thr Leu Gln Glu  
 305 310 315 320

gtc aac agg gtt tct cag gtg gta aca agt ttg gca gat cca tca gca 1008  
 Val Asn Arg Val Ser Gln Val Val Thr Ser Leu Ala Asp Pro Ser Ala  
 325 330 335

aac att ata ttc ggg gca gtg gta gat gag aga tac aac ggg gag att 1056  
 Asn Ile Ile Phe Gly Ala Val Val Asp Glu Arg Tyr Asn Gly Glu Ile  
 340 345 350

cat gtg acc att gtt gct act ggc ttt gcc cag tcg ttt cag aaa tct 1104  
 His Val Thr Ile Val Ala Thr Gly Phe Ala Gln Ser Phe Gln Lys Ser  
 355 360 365

ctt ctt gct gac ccg aaa gga gca aaa ctt gtt gat aga aat caa gaa 1152  
 Leu Leu Ala Asp Pro Lys Gly Ala Lys Leu Val Asp Arg Asn Gln Glu  
 370 375 380

cct aca caa cct ttg act tcc gcg aga tct ttg aca aca cct tct cct 1200  
 Pro Thr Gln Pro Leu Thr Ser Ala Arg Ser Leu Thr Thr Pro Ser Pro  
 385 390 395 400

gct ccg tct cgg tct agg aaa ctc ttc ttt taa 1233  
 Ala Pro Ser Arg Ser Arg Lys Leu Phe Phe  
 405 410



&lt;211&gt; 410

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Tagetes erecta

&lt;400&gt; 32

Met Ala Thr His Lys Leu Leu Gln Phe Thr Thr Asn Leu Pro Pro Ser  
 1 5 10 15

Ser Ser Ser Ile Ser Thr Gly Cys Ser Leu Ser Pro Phe Phe Leu Lys  
 20 25 30

Ser Ser Ser His Ser Pro Asn Pro Arg Arg His Arg Arg Ser Ala Val  
 35 40 45

Cys Cys Ser Phe Ala Ser Leu Asp Ser Ala Lys Ile Lys Val Val Gly  
 50 55 60

Val Gly Gly Gly Gly Asn Asn Ala Val Asn Arg Met Ile Gly Ser Gly  
 65 70 75 80

Leu Gln Gly Val Asp Phe Tyr Ala Ile Asn Thr Asp Ser Gln Ala Leu  
 85 90 95

Leu Gln Ser Val Ala His Asn Pro Ile Gln Ile Gly Glu Leu Leu Thr  
 100 105 110

Arg Gly Leu Gly Thr Gly Gly Asn Pro Leu Leu Gly Glu Gln Ala Ala  
 115 120 125

Glu Glu Ser Lys Glu Ala Ile Gly Asn Ala Leu Lys Gly Ser Asp Leu  
 130 135 140

Val Phe Ile Thr Ala Gly Met Gly Gly Gly Thr Gly Ser Gly Ala Ala  
 145 150 155 160

Pro Val Val Ala Gln Ile Ala Lys Glu Ala Gly Tyr Leu Thr Val Gly  
 165 170 175

Val Val Thr Tyr Pro Phe Ser Phe Glu Gly Arg Lys Arg Ser Val Gln  
180 185 190

Ala Leu Glu Ala Ile Glu Lys Leu Gln Lys Asn Val Asp Thr Leu Ile  
195 200 205

Val Ile Pro Asn Asp Arg Leu Leu Asp Ile Ala Asp Glu Asn Thr Pro  
210 215 220

Leu Gln Asp Ala Phe Leu Leu Ala Asp Asp Val Leu Arg Gln Gly Val  
225 230 235 240

Gln Gly Ile Ser Asp Ile Ile Thr Ile Pro Gly Leu Val Asn Val Asp  
245 250 255

Phe Ala Asp Val Lys Ala Val Met Lys Asp Ser Gly Thr Ala Met Leu  
260 265 270

Gly Val Gly Val Ser Ser Ser Lys Asn Arg Ala Glu Glu Ala Ala Glu  
275 280 285

Gln Ala Thr Leu Ala Pro Leu Ile Gly Ser Ser Ile Gln Ser Ala Thr  
290 295 300

Gly Val Val Tyr Asn Ile Thr Gly Gly Lys Asp Ile Thr Leu Gln Glu  
305 310 315 320

Val Asn Arg Val Ser Gln Val Val Thr Ser Leu Ala Asp Pro Ser Ala  
325 330 335

Asn Ile Ile Phe Gly Ala Val Val Asp Glu Arg Tyr Asn Gly Glu Ile  
340 345 350

His Val Thr Ile Val Ala Thr Gly Phe Ala Gln Ser Phe Gln Lys Ser  
355 360 365

Leu Leu Ala Asp Pro Lys Gly Ala Lys Leu Val Asp Arg Asn Gln Glu  
370 375 380

Pro Thr Gln Pro Leu Thr Ser Ala Arg Ser Leu Thr Thr Pro Ser Pro  
 385 390 395 400

Ala Pro Ser Arg Ser Arg Lys Leu Phe Phe  
 405 410

<210> 33

<211> 891

<212> DNA

<213> *Tagetes erecta*

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (891)

<223>

<400> 33

atg aca tcc ctg agg ttt cta aca gaa ccc tca ctt gta tgc tca tcc 48  
 Met Thr Ser Leu Arg Phe Leu Thr Glu Pro Ser Leu Val Cys Ser Ser  
 1 5 10 15

act ttc ccc aca ttc aat ccc cta cac aaa acc cta act aaa cca aca 96  
 Thr Phe Pro Thr Phe Asn Pro Leu His Lys Thr Leu Thr Lys Pro Thr  
 20 25 30

cca aaa ccc tac cca aag cca cca cca att cgc tcc gtc ctt caa tac 144  
 Pro Lys Pro Tyr Pro Lys Pro Pro Pro Ile Arg Ser Val Leu Gln Tyr  
 35 40 45

aat cgc aaa cca gag ctc gcc gga gac act cca cga gtc gtc gca atc 192  
 Asn Arg Lys Pro Glu Leu Ala Gly Asp Thr Pro Arg Val Val Ala Ile  
 50 55 60

gac gcc gac gtt ggt cta cgt aac ctc gat ctt ctt ctc ggt ctc gaa 240  
 Asp Ala Asp Val Gly Leu Arg Asn Leu Asp Leu Leu Leu Gly Leu Glu  
 65 70 75 80

aac cgc gtc aat tac acc gtc gtt gaa gtt ctc aac ggc gat tgc aga 288

Asn Arg Val Asn Tyr Thr Val Val Glu Val Leu Asn Gly Asp Cys Arg	
85 90 95	
ctc gac caa gcc cta gtt cgt gat aaa cgc tgg tca aat ttc gaa ttg	336
Leu Asp Gln Ala Leu Val Arg Asp Lys Arg Trp Ser Asn Phe Glu Leu	
100 105 110	
ctt tgt att tca aaa cct agg tca aaa ttg cct tta gga ttt ggg gga	384
Leu Cys Ile Ser Lys Pro Arg Ser Lys Leu Pro Leu Gly Phe Gly Gly	
115 120 125	
aaa gct tta gtt tgg ctt gat gca tta aaa gat agg caa gaa ggt tgc	432
Lys Ala Leu Val Trp Leu Asp Ala Leu Lys Asp Arg Gln Glu Gly Cys	
130 135 140	
ccg gat ttt ata ctt ata gat tgt cct gca ggt att gat gcc ggg ttc	480
Pro Asp Phe Ile Leu Ile Asp Cys Pro Ala Gly Ile Asp Ala Gly Phe	
145 150 155 160	
ata acc gcc att aca ccg gct aac gaa gcc gta tta gtt aca aca cct	528
Ile Thr Ala Ile Thr Pro Ala Asn Glu Ala Val Leu Val Thr Thr Pro	
165 170 175	
gat att act gca ttg aga gat gca gat aga gtt aca ggc ttg ctt gaa	576
Asp Ile Thr Ala Leu Arg Asp Ala Asp Arg Val Thr Gly Leu Leu Glu	
180 185 190	
tgt gat gga att agg gat att aaa atg att gtg aac aga gtt aga act	624
Cys Asp Gly Ile Arg Asp Ile Lys Met Ile Val Asn Arg Val Arg Thr	
195 200 205	
gat ttg ata agg ggt gaa gat atg atg tca gtt ctt gat gtt caa gag	672
Asp Leu Ile Arg Gly Glu Asp Met Met Ser Val Leu Asp Val Gln Glu	
210 215 220	
atg ttg gga ttg tca ttg ttg agt gat acc cga gga ttc gaa gtg att	720
Met Leu Gly Leu Ser Leu Leu Ser Asp Thr Arg Gly Phe Glu Val Ile	
225 230 235 240	
cgg agt acg aat aga ggg ttt ccg ctt gtg ttg aac aag cct ccg act	768
Arg Ser Thr Asn Arg Gly Phe Pro Leu Val Leu Asn Lys Pro Pro Thr	
245 250 255	
tta gca gga ttg gca ttt gag cag gct gct tgg aga ttg gtt gag caa	816
Leu Ala Gly Leu Ala Phe Glu Gln Ala Ala Trp Arg Leu Val Glu Gln	
260 265 270	
gat agc atg aag gct gtg atg gtg gag gaa gaa cct aaa aag agg gga	864
Asp Ser Met Lys Ala Val Met Val Glu Glu Glu Pro Lys Lys Arg Gly	
275 280 285	
ttt ttc tcg ttt ttt gga ggt tag tga	891

Phe Phe Ser Phe Phe Gly Gly  
290 295

<210> 34

<211> 295

<212> PRT

<213> Tagetes erecta

<400> 34

Met Thr Ser Leu Arg Phe Leu Thr Glu Pro Ser Leu Val Cys Ser Ser  
1 5 10 15

Thr Phe Pro Thr Phe Asn Pro Leu His Lys Thr Leu Thr Lys Pro Thr  
20 25 30

Pro Lys Pro Tyr Pro Lys Pro Pro Pro Ile Arg Ser Val Leu Gln Tyr  
35 40 45

Asn Arg Lys Pro Glu Leu Ala Gly Asp Thr Pro Arg Val Val Ala Ile  
50 55 60

Asp Ala Asp Val Gly Leu Arg Asn Leu Asp Leu Leu Leu Gly Leu Glu  
65 70 75 80

Asn Arg Val Asn Tyr Thr Val Val Glu Val Leu Asn Gly Asp Cys Arg  
85 90 95

Leu Asp Gln Ala Leu Val Arg Asp Lys Arg Trp Ser Asn Phe Glu Leu  
100 105 110

Leu Cys Ile Ser Lys Pro Arg Ser Lys Leu Pro Leu Gly Phe Gly Gly  
115 120 125

Lys Ala Leu Val Trp Leu Asp Ala Leu Lys Asp Arg Gln Glu Gly Cys  
130 135 140

Pro Asp Phe Ile Leu Ile Asp Cys Pro Ala Gly Ile Asp Ala Gly Phe  
145 150 155 160

Ile Thr Ala Ile Thr Pro Ala Asn Glu Ala Val Leu Val Thr Thr Pro  
165 170 175

Asp Ile Thr Ala Leu Arg Asp Ala Asp Arg Val Thr Gly Leu Leu Glu  
180 185 190

Cys Asp Gly Ile Arg Asp Ile Lys Met Ile Val Asn Arg Val Arg Thr  
195 200 205

Asp Leu Ile Arg Gly Glu Asp Met Met Ser Val Leu Asp Val Gln Glu  
210 215 220

Met Leu Gly Leu Ser Leu Leu Ser Asp Thr Arg Gly Phe Glu Val Ile  
225 230 235 240

Arg Ser Thr Asn Arg Gly Phe Pro Leu Val Leu Asn Lys Pro Pro Thr  
245 250 255

Leu Ala Gly Leu Ala Phe Glu Gln Ala Ala Trp Arg Leu Val Glu Gln  
260 265 270

Asp Ser Met Lys Ala Val Met Val Glu Glu Glu Pro Lys Lys Arg Gly  
275 280 285

Phe Phe Ser Phe Phe Gly Gly  
290 295

<210> 35

<211> 1662

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

<220>

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (168)..(1130)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 35

```

cggggcaact caagaaattc aacagctgca agcgcgcccc agcctcacag cgccaagtga      60

gctatcgacg tggttgtgag cgctcgacgt ggtccactga cgggcctgtg agcctctgcg      120

ctccgtcctc tgccaaatct cgcgtcgggg cctgcctaag tcgaaga atg cac gtc      176
                                   Met His Val
                                   1

gca tcg gca cta atg gtc gag cag aaa ggc agt gag gca gct gct tcc      224
Ala Ser Ala Leu Met Val Glu Gln Lys Gly Ser Glu Ala Ala Ala Ser
      5                      10                      15

agc cca gac gtc ttg aga gcg tgg gcg aca cag tat cac atg cca tcc      272
Ser Pro Asp Val Leu Arg Ala Trp Ala Thr Gln Tyr His Met Pro Ser
      20                      25                      30                      35

gag tcg tca gac gca gct cgt cct gcg cta aag cac gcc tac aaa cct      320
Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Ala Leu Lys His Ala Tyr Lys Pro
                        40                      45                      50

cca gca tct gac gcc aag ggc atc acg atg gcg ctg acc atc att ggc      368
Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr Ile Ile Gly
                        55                      60                      65

acc tgg acc gca gtg ttt tta cac gca ata ttt caa atc agg cta ccg      416
Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Arg Leu Pro
                        70                      75                      80

aca tcc atg gac cag ctt cac tgg ttg cct gtg tcc gaa gcc aca gcc      464
Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu Ala Thr Ala
                        85                      90                      95

cag ctt ttg ggc gga agc agc agc cta ctg cac atc gct gca gtc ttc      512
Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala Ala Val Phe
      100                      105                      110                      115

att gta ctt gag ttc ctg tac act ggt cta ttc atc acc aca cat gac      560
Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp
                        120                      125                      130

gca atg cat ggc acc ata gct ttg agg cac agg cag ctc aat gat ctc      608
Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg His Arg Gln Leu Asn Asp Leu
                        135                      140                      145

```

ctt ggc aac atc tgc ata tca ctg tac gcc tgg ttt gac tac agc atg	656
Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Ser Met	
150 155 160	
ctg cat cgc aag cac tgg gag cac cac aac cat act ggc gaa gtg ggg	704
Leu His Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly	
165 170 175	
aaa gac cct gac ttc cac aag gga aat ccc ggc ctt gtc ccc tgg ttc	752
Lys Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe	
180 185 190 195	
gcc agc ttc atg tcc agc tac atg tcc ctg tgg cag ttt gcc cgg ctg	800
Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu	
200 205 210	
gca tgg tgg gca gtg gtg atg caa atg ctg ggg gcg ccc atg gca aat	848
Ala Trp Trp Ala Val Val Met Gln Met Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn	
215 220 225	
ctc cta gtc ttc atg gct gca gcc cca atc ttg tca gca ttc cgc ctc	896
Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu	
230 235 240	
ttc tac ttc ggc act tac ctg cca cac aag cct gag cca ggc cct gca	944
Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala	
245 250 255	
gca ggc tct cag gtg atg gcc tgg ttc agg gcc aag aca agt gag gca	992
Ala Gly Ser Gln Val Met Ala Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala	
260 265 270 275	
tct gat gtg atg agt ttc ctg aca tgc tac cac ttt gac ctg cac tgg	1040
Ser Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp	
280 285 290	
gag cac cac agg tgg ccc ttt gcc ccc tgg tgg cag ctg ccc cac tgc	1088
Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Gln Leu Pro His Cys	
295 300 305	
cgc cgc ctg tcc ggg cgt ggc ctg gtg cct gcc ttg gca tga	1130
Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Leu Ala	
310 315 320	
cctgggtccct ccgctggtga cccagcgtct gcacaagagt gtcattgctac aggggtgctgc	1190
ggccagtggc agcgcagtgc actctcagcc tgtatggggc taccgctgtg ccactgagca	1250
ctgggcatgc cactgagcac tgggcgtgct actgagcaat gggcgtgcta ctgagcaatg	1310
ggcgtgctac tgacaatggg cgtgctactg gggctctggca gtggctagga tggagtttga	1370



tgcattcagt agcgggtggcc aacgtcatgt ggatgggtgga agtgctgagg ggtttaggca 1430  
 gccggcattt gagaggggcta agttataaat cgcattgctgc tcatgcgcac atatctgcac 1490  
 acagccaggg aaatcccttc gagagtgatt atgggacact tgtattgggt tcgtgctatt 1550  
 gttttattca gcagcagtagc ttagtgaggg tgagagcagg gtggtgagag tggagtgagt 1610  
 gagtatgaac ctggtcagcg aggtgaacag cctgtaatga atgactctgt ct 1662

<210> 36

<211> 320

<212> PRT

<213> Haematococcus pluvialis

<400> 36

Met His Val Ala Ser Ala Leu Met Val Glu Gln Lys Gly Ser Glu Ala  
 1 5 10 15

Ala Ala Ser Ser Pro Asp Val Leu Arg Ala Trp Ala Thr Gln Tyr His  
 20 25 30

Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Ala Leu Lys His Ala  
 35 40 45

Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr  
 50 55 60

Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile  
 65 70 75 80

Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu  
 85 90 95

Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala  
 100 105 110

Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr  
115 120 125

Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg His Arg Gln Leu  
130 135 140

Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp  
145 150 155 160

Tyr Ser Met Leu His Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly  
165 170 175

Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val  
180 185 190

Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe  
195 200 205

Ala Arg Leu Ala Trp Trp Ala Val Val Met Gln Met Leu Gly Ala Pro  
210 215 220

Met Ala Asn Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala  
225 230 235 240

Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro  
245 250 255

Gly Pro Ala Ala Gly Ser Gln Val Met Ala Trp Phe Arg Ala Lys Thr  
260 265 270

Ser Glu Ala Ser Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp  
275 280 285

Leu His Trp Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Gln Leu  
290 295 300

Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Leu Ala  
305 310 315 320

<210> 37

**<211> 729**

**<212> DNA**

<213> Agrobacterium aurantiacum

**<220>**

<221> CDS

<222> (1) .. (729)

**<223>**

**<400> 37**

atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc acc agc ctg 48  
Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu  
1 5 10 15

atc	gtc	tcg	ggc	ggc	atc	atc	gcc	gct	tgg	ctg	gcc	ctg	cat	gtg	cat	96
Ile	Val	Ser	Gly	Gly	Ile	Ile	Ala	Ala	Trp	Leu	Ala	Leu	His	Val	His	
			20					25					30			

gcg ctg tgg ttt ctg gac gca gcg gcg cat ccc atc ctg gcg atc gca 144  
Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala  
35 40 45

aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg 192  
Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala  
50 55 60

cat gac gcg atg cac ggg tcg gtg gtg ccg ggg cgt ccg cgc gcc aat 240  
His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn  
65 70 75 80

gcg gcg atg ggc cag ctt gtc ctg tgg ctg tat gcc gga ttt tcg tgg 288  
Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp  
85 90 95

cgc aag atg atc gtc aag cac atg gcc cat cac cgc cat gcc gga acc 336  
Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr  
100 105 110

gac gac gac ccc gat ttc gac cat ggc ggc ccg gtc cgc tgg tac gcc 384  
Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala  
115 120 125

cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc 432  
 Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro  
 130 135 140

gtc atc gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctt ggg gat cgc tgg atg tac 480  
 Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr  
 145 150 155 160

gtg gtc ttc tgg ccg ctg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc 528  
 Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe  
 165 170 175

gtg ttc ggc acc tgg ctg ccg cac cgc ccc ggc cac gac gcg ttc ccg 576  
 Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro  
 180 185 190

gac cgc cac aat gcg cgg tcg tcg cgg atc agc gac ccc gtg tcg ctg 624  
 Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu  
 195 200 205

ctg acc tgc ttt cac ttt ggc ggt tat cat cac gaa cac cac ctg cac 672  
 Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His  
 210 215 220

ccg acg gtg ccg tgg tgg cgc ctg ccc agc acc cgc acc aag ggg gac 720  
 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp  
 225 230 235 240

acc gca tga 729  
 Thr Ala

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 242

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Agrobacterium aurantiacum

&lt;400&gt; 38

Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu  
 1 5 10 15

Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His  
 20 25 30

Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala  
 35 40 45

Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala  
 50 55 60

His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn  
 65 70 75 80

Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp  
 85 90 95

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr  
 100 105 110

Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala  
 115 120 125

Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro  
 130 135 140

Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr  
 145 150 155 160

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe  
 165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro  
 180 185 190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu  
 195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His  
 210 215 220

Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp  
 225 230 235 240

Thr Ala

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 1631

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Alcaligenes sp.

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (99)..(827)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 39

ctgcaggccg ggcccgggtgg ccaatggtcg caaccggcag gactggaaca ggacggcggg 60

ccggtctagg ctgtcgccct acgcagcagg agtttcgg atg tcc gga cgg aag cct 116  
Met Ser Gly Arg Lys Pro  
1 5ggc aca act ggc gac acg atc gtc aat ctc ggt ctg acc gcc gcg atc 164  
Gly Thr Thr Gly Asp Thr Ile Val Asn Leu Gly Leu Thr Ala Ala Ile  
10 15 20ctg ctg tgc tgg ctg gtc ctg cac gcc ttt acg cta tgg ttg cta gat 212  
Leu Leu Cys Trp Leu Val Leu His Ala Phe Thr Leu Trp Leu Leu Asp  
25 30 35gcg gcc gcg cat ccg ctg ctt gcc gtg ctg tgc ctg gct ggg ctg acc 260  
Ala Ala Ala His Pro Leu Leu Ala Val Leu Cys Leu Ala Gly Leu Thr  
40 45 50tgg ctg tgc gtc ggg ctg ttc atc atc gcg cat gac gca atg cac ggg 308  
Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Ala Met His Gly  
55 60 65 70tcc gtg gtg ccg ggg ccg cgc gcc aat gcg gcg atc ggg caa ctg 356  
Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn Ala Ala Ile Gly Gln Leu  
75 80 85

gcg ctg tgg ctc tat gcg ggg ttc tcg tgg ccc aag ctg atc gcc aag 404  
 Ala Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp Pro Lys Leu Ile Ala Lys  
 90 95 100

cac atg acg cat cac cgg cac gcc ggc acc gac aac gat ccc gat ttc 452  
 His Met Thr His His Arg His Ala Gly Thr Asp Asn Asp Pro Asp Phe  
 105 110 115

ggt cac gga ggg ccc gtg cgc tgg tac ggc agc ttc gtc tcc acc tat 500  
 Gly His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Gly Ser Phe Val Ser Thr Tyr  
 120 125 130

ttc ggc tgg cga gag gga ctg ctg cta ccg gtg atc gtc acc acc tat 548  
 Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro Val Ile Val Thr Thr Tyr  
 135 140 145 150

gcg ctg atc ctg ggc gat cgc tgg atg tat gtc atc ttc tgg ccg gtc 596  
 Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr Val Ile Phe Trp Pro Val  
 155 160 165

ccg gcc gtt ctg gcg tcg atc cag att ttc gtc ttc gga act tgg ctg 644  
 Pro Ala Val Leu Ala Ser Ile Gln Ile Phe Val Phe Gly Thr Trp Leu  
 170 175 180

ccc cac cgc ccg gga cat gac gat ttt ccc gac cgg cac aac gcg agg 692  
 Pro His Arg Pro Gly His Asp Asp Phe Pro Asp Arg His Asn Ala Arg  
 185 190 195

tcg acc ggc atc ggc gac ccg ttg tca cta ctg acc tgc ttc cat ttc 740  
 Ser Thr Gly Ile Gly Asp Pro Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe  
 200 205 210

ggc ggc tat cac cac gaa cat cac ctg cat ccg cat gtg ccg tgg tgg 788  
 Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His Pro His Val Pro Trp Trp  
 215 220 225 230

cgc ctg cct cgt aca cgc aag acc gga ggc cgc gca tga cgcaattcct 837  
 Arg Leu Pro Arg Thr Arg Lys Thr Gly Gly Arg Ala  
 235 240

cattgtcgtg gcgacagtcc tcgtgatgga gctgaccgcc tattccgtcc accgctggat 897

tatgcacggc cccctaggct ggggctggca caagtcccat cacgaagagc acgaccacgc 957

gttggagaag aacgacctct acggcgctcgt cttcgcgggtg ctggcgacga tcctcttcac 1017

cgtggggcgcc tattggtggc cgggtgctgtg gtggatcgcc ctgggcatga cgggtctatgg 1077

gttgatctat ttcacctcgc acgacgggct tgtgcatcaa cgctggccgt ttcgggtatat 1137

tccgcggcgg ggctatttcc gcaggctcta ccaagctcat cgctgcacc acgcggtcga 1197

```

ggggcgggac cactgctca gcttcggctt catctatgcc ccacccgtgg acaagctgaa 1257
gcaggatctg aagcggtcgg gtgtcctgcg cccccaggac gagcgccgt cgtgatctct 1317
gatcccgcg tggccgcatg aaatccgacg tgctgctggc agggggccggc cttgccaacg 1377
gactgatcgc gctggcgatc cgcaaggcgc ggcccgcacct tcgctgctg ctgctggacc 1437
gtgcgggcggg cgctcggac gggcatactt ggtcctgcca cgacaccgat ttggcgccgc 1497
actggctgga ccgcctgaag ccgatcaggc gtggcgactg gcccgatcag gaggtgcggt 1557
tcccagacca ttcggaagg ctccgggccg gatatggctc gatcgacggg cgggggctga 1617
tgctgctggt gacc 1631

```

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 242

&lt;212&gt; PRT

<213> *Alcaligenes* sp.

&lt;400&gt; 40

```

Met Ser Gly Arg Lys Pro Gly Thr Thr Gly Asp Thr Ile Val Asn Leu
1           5           10           15

```

```

Gly Leu Thr Ala Ala Ile Leu Leu Cys Trp Leu Val Leu His Ala Phe
          20           25           30

```

```

Thr Leu Trp Leu Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Leu Leu Ala Val Leu
35           40           45

```

```

Cys Leu Ala Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
50           55           60

```

```

His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
65           70           75           80

```

```

Ala Ala Ile Gly Gln Leu Ala Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
85           90           95

```



Pro Lys Leu Ile Ala Lys His Met Thr His His Arg His Ala Gly Thr  
 100 105 110

Asp Asn Asp Pro Asp Phe Gly His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Gly  
 115 120 125

Ser Phe Val Ser Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro  
 130 135 140

Val Ile Val Thr Thr Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr  
 145 150 155 160

Val Ile Phe Trp Pro Val Pro Ala Val Leu Ala Ser Ile Gln Ile Phe  
 165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Asp Phe Pro  
 180 185 190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Thr Gly Ile Gly Asp Pro Leu Ser Leu  
 195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His  
 210 215 220

Pro His Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Arg Thr Arg Lys Thr Gly Gly  
 225 230 235 240

Arg Ala

<210> 41

<211> 729

<212> DNA

<213> *Paracoccus marcusii*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (729)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 41

atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc aca agc ctg	48
Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu	
1 5 10 15	

atc gtc tcg ggc ggc atc atc gcc gca tgg ctg gcc ctg cat gtg cat	96
Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His	
20 25 30	

gcg ctg tgg ttt ctg gac gcg gcg gcc cat ccc atc ctg gcg gtc gcg	144
Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Val Ala	
35 40 45	

aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg	192
Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala	
50 55 60	

cat gac gcg atg cac ggg tcg gtc gtg ccg ggg cgt ccg cgc gcc aat	240
His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn	
65 70 75 80	

gcg gcg atg ggc cag ctt gtc ctg tgg ctg tat gcc gga ttt tcg tgg	288
Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp	
85 90 95	

cgc aag atg atc gtc aag cac atg gcc cat cac cgc cat gcc gga acc	336
Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr	
100 105 110	

gac gac gac cca gat ttc gac cat ggc ggc ccg gtc cgc tgg tac gcc	384
Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala	
115 120 125	

cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc	432
Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro	
130 135 140	

gtc atc gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctg ggg gat cgc tgg atg tac	480
Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr	
145 150 155 160	

gtg gtc ttc tgg ccg ttg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc	528
---	-----

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe  
 165 170 175  
 gtg ttc ggc act tgg ctg ccg cac cgc ccc ggc cac gac gcg ttc ccg 576  
 Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro  
 180 185 190  
 gac cgc cat aat gcg cgg tcg tcg cgg atc agc gac cct gtg tcg ctg 624  
 Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu  
 195 200 205  
 ctg acc tgc ttt cat ttt ggc ggt tat cat cac gaa cac cac ctg cac 672  
 Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His  
 210 215 220  
 ccg acg gtg ccg tgg tgg cgc ctg ccc agc acc cgc acc aag ggg gac 720  
 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp  
 225 230 235 240  
 acc gca tga 729  
 Thr Ala

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 242

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Paracoccus marcusii

&lt;400&gt; 42

Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu  
 1 5 10 15  
 Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His  
 20 25 30  
 Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Val Ala  
 35 40 45  
 Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala  
 50 55 60

100

His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn  
65 70 75 80

Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp  
85 90 95

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr  
100 105 110

Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala  
115 120 125

Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro  
130 135 140

Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr  
145 150 155 160

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe  
165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro  
180 185 190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu  
195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His  
210 215 220

Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp  
225 230 235 240

Thr Ala

<210> 43

<211> 1629

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Synechococystis

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(1629)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 43

atg atc acc acc gat gtt gtc att att ggg gcg ggg cac aat ggc tta	48
Met Ile Thr Thr Asp Val Val Ile Ile Gly Ala Gly His Asn Gly Leu	
1 5 10 15	

gtc tgt gca gcc tat ttg ctc caa cgg ggc ttg ggg gtg acg tta cta	96
Val Cys Ala Ala Tyr Leu Leu Gln Arg Gly Leu Gly Val Thr Leu Leu	
20 25 30	

gaa aag cgg gaa gta cca ggg ggg gcg gcc acc aca gaa gct ctc atg	144
Glu Lys Arg Glu Val Pro Gly Gly Ala Ala Thr Thr Glu Ala Leu Met	
35 40 45	

ccg gag cta tcc ccc cag ttt cgc ttt aac cgc tgt gcc att gac cac	192
Pro Glu Leu Ser Pro Gln Phe Arg Phe Asn Arg Cys Ala Ile Asp His	
50 55 60	

gaa ttt atc ttt ctg ggg ccg gtg ttg cag gag cta aat tta gcc cag	240
Glu Phe Ile Phe Leu Gly Pro Val Leu Gln Glu Leu Asn Leu Ala Gln	
65 70 75 80	

tat ggt ttg gaa tat tta ttt tgt gac ccc agt gtt ttt tgt ccg ggg	288
Tyr Gly Leu Glu Tyr Leu Phe Cys Asp Pro Ser Val Phe Cys Pro Gly	
85 90 95	

ctg gat ggc caa gct ttt atg agc tac cgt tcc cta gaa aaa acc tgt	336
Leu Asp Gly Gln Ala Phe Met Ser Tyr Arg Ser Leu Glu Lys Thr Cys	
100 105 110	

gcc cac att gcc acc tat agc ccc cga gat gcg gaa aaa tat cgg caa	384
Ala His Ile Ala Thr Tyr Ser Pro Arg Asp Ala Glu Lys Tyr Arg Gln	
115 120 125	

ttt gtc aat tat tgg acg gat ttg ctc aac gct gtc cag cct gct ttt	432
Phe Val Asn Tyr Trp Thr Asp Leu Leu Asn Ala Val Gln Pro Ala Phe	
130 135 140	



ccg gag gat cta acg gga act att ttg att gcc gac tcg gta cgc cat 1104  
 Pro Glu Asp Leu Thr Gly Thr Ile Leu Ile Ala Asp Ser Val Arg His  
 355 360 365

gtc gag gaa gcc cac gcc ctc att gcc ttg ggg caa att ccc gat gct 1152  
 Val Glu Glu Ala His Ala Leu Ile Ala Leu Gly Gln Ile Pro Asp Ala  
 370 375 380

aat ccg tct tta tat ttg gat att ccc act gta ttg gac ccc acc atg 1200  
 Asn Pro Ser Leu Tyr Leu Asp Ile Pro Thr Val Leu Asp Pro Thr Met  
 385 390 395 400

gcc ccc cct ggg cag cac acc ctc tgg atc gaa ttt ttt gcc ccc tac 1248  
 Ala Pro Pro Gly Gln His Thr Leu Trp Ile Glu Phe Phe Ala Pro Tyr  
 405 410 415

cgc atc gcc ggg ttg gaa ggg aca ggg tta atg ggc aca ggt tgg acc 1296  
 Arg Ile Ala Gly Leu Glu Gly Thr Gly Leu Met Gly Thr Gly Trp Thr  
 420 425 430

gat gag tta aag gaa aaa gtg gcg gat cgg gtg att gat aaa tta acg 1344  
 Asp Glu Leu Lys Glu Lys Val Ala Asp Arg Val Ile Asp Lys Leu Thr  
 435 440 445

gac tat gcc cct aac cta aaa tct ctg atc att ggt cgc cga gtg gaa 1392  
 Asp Tyr Ala Pro Asn Leu Lys Ser Leu Ile Ile Gly Arg Arg Val Glu  
 450 455 460

agt ccc gcc gaa ctg gcc caa cgg ctg gga agt tac aac ggc aat gtc 1440  
 Ser Pro Ala Glu Leu Ala Gln Arg Leu Gly Ser Tyr Asn Gly Asn Val  
 465 470 475 480

tat cat ctg gat atg agt ttg gac caa atg atg ttc ctc cgg cct cta 1488  
 Tyr His Leu Asp Met Ser Leu Asp Gln Met Met Phe Leu Arg Pro Leu  
 485 490 495

ccg gaa att gcc aac tac caa acc ccc atc aaa aat ctt tac tta aca 1536  
 Pro Glu Ile Ala Asn Tyr Gln Thr Pro Ile Lys Asn Leu Tyr Leu Thr  
 500 505 510

ggg gcg ggt acc cat ccc ggt ggc tcc ata tca ggt atg ccc ggt aga 1584  
 Gly Ala Gly Thr His Pro Gly Gly Ser Ile Ser Gly Met Pro Gly Arg  
 515 520 525

aat tgc gct cgg gtc ttt tta aaa caa caa cgt cgt ttt tgg taa 1629  
 Asn Cys Ala Arg Val Phe Leu Lys Gln Gln Arg Arg Phe Trp  
 530 535 540

&lt;211&gt; 542

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Synechococystis

&lt;400&gt; 44

Met Ile Thr Thr Asp Val Val Ile Ile Gly Ala Gly His Asn Gly Leu  
1 5 10 15

Val Cys Ala Ala Tyr Leu Leu Gln Arg Gly Leu Gly Val Thr Leu Leu  
20 25 30

Glu Lys Arg Glu Val Pro Gly Gly Ala Ala Thr Thr Glu Ala Leu Met  
35 40 45

Pro Glu Leu Ser Pro Gln Phe Arg Phe Asn Arg Cys Ala Ile Asp His  
50 55 60

Glu Phe Ile Phe Leu Gly Pro Val Leu Gln Glu Leu Asn Leu Ala Gln  
65 70 75 80

Tyr Gly Leu Glu Tyr Leu Phe Cys Asp Pro Ser Val Phe Cys Pro Gly  
85 90 95

Leu Asp Gly Gln Ala Phe Met Ser Tyr Arg Ser Leu Glu Lys Thr Cys  
100 105 110

Ala His Ile Ala Thr Tyr Ser Pro Arg Asp Ala Glu Lys Tyr Arg Gln  
115 120 125

Phe Val Asn Tyr Trp Thr Asp Leu Leu Asn Ala Val Gln Pro Ala Phe  
130 135 140

Asn Ala Pro Pro Gln Ala Leu Leu Asp Leu Ala Leu Asn Tyr Gly Trp  
145 150 155 160

Glu Asn Leu Lys Ser Val Leu Ala Ile Ala Gly Ser Lys Thr Lys Ala  
165 170 175



Leu Asp Phe Ile Arg Thr Met Ile Gly Ser Pro Glu Asp Val Leu Asn  
180 185 190

Glu Trp Phe Asp Ser Glu Arg Val Lys Ala Pro Leu Ala Arg Leu Cys  
195 200 205

Ser Glu Ile Gly Ala Pro Pro Ser Gln Lys Gly Ser Ser Ser Gly Met  
210 215 220

Met Met Val Ala Met Arg His Leu Glu Gly Ile Ala Arg Pro Lys Gly  
225 230 235 240

Gly Thr Gly Ala Leu Thr Glu Ala Leu Val Lys Leu Val Gln Ala Gln  
245 250 255

Gly Gly Lys Ile Leu Thr Asp Gln Thr Val Lys Arg Val Leu Val Glu  
260 265 270

Asn Asn Gln Ala Ile Gly Val Glu Val Ala Asn Gly Glu Gln Tyr Arg  
275 280 285

Ala Lys Lys Gly Val Ile Ser Asn Ile Asp Ala Arg Arg Leu Phe Leu  
290 295 300

Gln Leu Val Glu Pro Gly Ala Leu Ala Lys Val Asn Gln Asn Leu Gly  
305 310 315 320

Glu Arg Leu Glu Arg Arg Thr Val Asn Asn Asn Glu Ala Ile Leu Lys  
325 330 335

Ile Asp Cys Ala Leu Ser Gly Leu Pro His Phe Thr Ala Met Ala Gly  
340 345 350

Pro Glu Asp Leu Thr Gly Thr Ile Leu Ile Ala Asp Ser Val Arg His  
355 360 365

Val Glu Glu Ala His Ala Leu Ile Ala Leu Gly Gln Ile Pro Asp Ala  
370 375 380

Asn Pro Ser Leu Tyr Leu Asp Ile Pro Thr Val Leu Asp Pro Thr Met  
385 390 395 400

Ala Pro Pro Gly Gln His Thr Leu Trp Ile Glu Phe Phe Ala Pro Tyr  
405 410 415

Arg Ile Ala Gly Leu Glu Gly Thr Gly Leu Met Gly Thr Gly Trp Thr  
420 425 430

Asp Glu Leu Lys Glu Lys Val Ala Asp Arg Val Ile Asp Lys Leu Thr  
435 440 445

Asp Tyr Ala Pro Asn Leu Lys Ser Leu Ile Ile Gly Arg Arg Val Glu  
450 455 460

Ser Pro Ala Glu Leu Ala Gln Arg Leu Gly Ser Tyr Asn Gly Asn Val  
465 470 475 480

Tyr His Leu Asp Met Ser Leu Asp Gln Met Met Phe Leu Arg Pro Leu  
485 490 495

Pro Glu Ile Ala Asn Tyr Gln Thr Pro Ile Lys Asn Leu Tyr Leu Thr  
500 505 510

Gly Ala Gly Thr His Pro Gly Gly Ser Ile Ser Gly Met Pro Gly Arg  
515 520 525

Asn Cys Ala Arg Val Phe Leu Lys Gln Gln Arg Arg Phe Trp  
530 535 540

<210> 45

<211> 776

<212> DNA

<213> Bradyrhizobium sp.

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(774)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 45

atg	cat	gca	gca	acc	gcc	aag	gct	act	gag	ttc	ggg	gcc	tct	cgg	cgc	48
Met	His	Ala	Ala	Thr	Ala	Lys	Ala	Thr	Glu	Phe	Gly	Ala	Ser	Arg	Arg	
1				5					10					15		

gac	gat	gcg	agg	cag	cgc	cgc	gtc	ggg	ctc	acg	ctg	gcc	gcg	gtc	atc	96
Asp	Asp	Ala	Arg	Gln	Arg	Arg	Val	Gly	Leu	Thr	Leu	Ala	Ala	Val	Ile	
		20					25					30				

atc	gcc	gcc	tgg	ctg	gtg	ctg	cat	gtc	ggg	ctg	atg	ttc	ttc	tgg	ccg	144
Ile	Ala	Ala	Trp	Leu	Val	Leu	His	Val	Gly	Leu	Met	Phe	Phe	Trp	Pro	
	35						40					45				

ctg	acc	ctt	cac	agc	ctg	ctg	ccg	gct	ttg	cct	ctg	gtg	gtg	ctg	cag	192
Leu	Thr	Leu	His	Ser	Leu	Leu	Pro	Ala	Leu	Pro	Leu	Val	Val	Leu	Gln	
	50					55					60					

acc	tgg	ctc	tat	gta	ggc	ctg	ttc	atc	atc	gcg	cat	gac	tgc	atg	cac	240
Thr	Trp	Leu	Tyr	Val	Gly	Leu	Phe	Ile	Ile	Ala	His	Asp	Cys	Met	His	
65				70					75					80		

ggc	tcg	ctg	gtg	ccg	ttc	aag	ccg	cag	gtc	aac	cgc	cgt	atc	gga	cag	288
Gly	Ser	Leu	Val	Pro	Phe	Lys	Pro	Gln	Val	Asn	Arg	Arg	Ile	Gly	Gln	
			85					90						95		

ctc	tgc	ctg	ttc	ctc	tat	gcc	ggg	ttc	tcc	ttc	gac	gct	ctc	aat	gtc	336
Leu	Cys	Leu	Phe	Leu	Tyr	Ala	Gly	Phe	Ser	Phe	Asp	Ala	Leu	Asn	Val	
			100					105						110		

gag	cac	cac	aag	cat	cac	cgc	cat	ccc	ggc	acg	gcc	gag	gat	ccc	gat	384
Glu	His	His	Lys	His	His	Arg	His	Pro	Gly	Thr	Ala	Glu	Asp	Pro	Asp	
		115					120					125				

ttc	gac	gag	gtg	ccg	ccg	cac	ggc	ttc	tgg	cac	tgg	ttc	gcc	agc	ttt	432
Phe	Asp	Glu	Val	Pro	Pro	His	Gly	Phe	Trp	His	Trp	Phe	Ala	Ser	Phe	
	130					135					140					

ttc	ctg	cac	tat	ttc	ggc	tgg	aag	cag	gtc	gcg	atc	atc	gca	gcc	gtc	480
Phe	Leu	His	Tyr	Phe	Gly	Trp	Lys	Gln	Val	Ala	Ile	Ile	Ala	Ala	Val	
145					150				155					160		

tcg	ctg	gtt	tat	cag	ctc	gtc	ttc	gcc	gtt	ccc	ttg	cag	aac	atc	ctg	528
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Ser Leu Val Tyr Gln Leu Val Phe Ala Val Pro Leu Gln Asn Ile Leu  
165 170 175

ctg ttc tgg gcg ctg ccc ggg ctg ctg tcg gcg ctg cag ctg ttc acc 576  
Leu Phe Trp Ala Leu Pro Gly Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr  
180 185 190

ttc ggc acc tat ctg ccg cac aag ccg gcc acg cag ccc ttc gcc gat 624  
Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Ala Thr Gln Pro Phe Ala Asp  
195 200 205

cgc cac aac gcg cgg acg agc gaa ttt ccc gcg tgg ctg tcg ctg ctg 672  
Arg His Asn Ala Arg Thr Ser Glu Phe Pro Ala Trp Leu Ser Leu Leu  
210 215 220

acc tgc ttc cac ttc ggc ttt cat cac gag cat cat ctg cat ccc gat 720  
Thr Cys Phe His Phe Gly Phe His His Glu His His Leu His Pro Asp  
225 230 235 240

gcg ccg tgg tgg cgg ctg ccg gag atc aag cgg cgg gcc ctg gaa agg 768  
Ala Pro Trp Trp Arg Leu Pro Glu Ile Lys Arg Arg Ala Leu Glu Arg  
245 250 255

cgt gac ta 776  
Arg Asp

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 258

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bradyrhizobium sp.

&lt;400&gt; 46

Met His Ala Ala Thr Ala Lys Ala Thr Glu Phe Gly Ala Ser Arg Arg  
1 5 10 15

Asp Asp Ala Arg Gln Arg Arg Val Gly Leu Thr Leu Ala Ala Val Ile  
20 25 30

Ile Ala Ala Trp Leu Val Leu His Val Gly Leu Met Phe Phe Trp Pro  
35 40 45

Leu Thr Leu His Ser Leu Leu Pro Ala Leu Pro Leu Val Val Leu Gln  
 50 55 60

Thr Trp Leu Tyr Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Cys Met His  
 65 70 75 80

Gly Ser Leu Val Pro Phe Lys Pro Gln Val Asn Arg Arg Ile Gly Gln  
 85 90 95

Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Phe Asp Ala Leu Asn Val  
 100 105 110

Glu His His Lys His His Arg His Pro Gly Thr Ala Glu Asp Pro Asp  
 115 120 125

Phe Asp Glu Val Pro Pro His Gly Phe Trp His Trp Phe Ala Ser Phe  
 130 135 140

Phe Leu His Tyr Phe Gly Trp Lys Gln Val Ala Ile Ile Ala Ala Val  
 145 150 155 160

Ser Leu Val Tyr Gln Leu Val Phe Ala Val Pro Leu Gln Asn Ile Leu  
 165 170 175

Leu Phe Trp Ala Leu Pro Gly Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr  
 180 185 190

Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Ala Thr Gln Pro Phe Ala Asp  
 195 200 205

Arg His Asn Ala Arg Thr Ser Glu Phe Pro Ala Trp Leu Ser Leu Leu  
 210 215 220

Thr Cys Phe His Phe Gly Phe His His Glu His His Leu His Pro Asp  
 225 230 235 240

Ala Pro Trp Trp Arg Leu Pro Glu Ile Lys Arg Arg Ala Leu Glu Arg  
 245 250 255

Arg Asp

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 777

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Nostoc sp.

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(777)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 47

atg gtt cag tgt caa cca tca tct ctg cat tca gaa aaa ctg gtg tta	48
Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser Glu Lys Leu Val Leu	
1 5 10 15	

ttg tca tcg aca atc aga gat gat aaa aat att aat aag ggt ata ttt	96
Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile Asn Lys Gly Ile Phe	
20 25 30	

att gcc tgc ttt atc tta ttt tta tgg gca att agt tta atc tta tta	144
Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile Ser Leu Ile Leu Leu	
35 40 45	

ctc tca ata gat aca tcc ata att cat aag agc tta tta ggt ata gcc	192
Leu Ser Ile Asp Thr Ser Ile Ile His Lys Ser Leu Leu Gly Ile Ala	
50 55 60	

atg ctt tgg cag acc ttc tta tat aca ggt tta ttt att act gct cat	240
Met Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His	
65 70 75 80	

gat gcc atg cac ggc gta gtt tat ccc aaa aat ccc aga ata aat aat	288
Asp Ala Met His Gly Val Val Tyr Pro Lys Asn Pro Arg Ile Asn Asn	
85 90 95	

ttt ata ggt aag ctc act cta atc ttg tat gga cta ctc cct tat aaa	336
Phe Ile Gly Lys Leu Thr Leu Ile Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Lys	
100 105 110	

gat tta ttg aaa aaa cat tgg tta cac cac gga cat cct ggt act gat 384  
Asp Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Gly His Pro Gly Thr Asp  
115 120 125

tta gac cct gat tat tac aat ggt cat ccc caa aac ttc ttt ctt tgg 432  
Leu Asp Pro Asp Tyr Tyr Asn Gly His Pro Gln Asn Phe Phe Leu Trp  
130 135 140

tat cta cat ttt atg aag tct tat tgg cga tgg acg caa att ttc gga 480  
Tyr Leu His Phe Met Lys Ser Tyr Trp Arg Trp Thr Gln Ile Phe Gly  
145 150 155 160

tta gtg atg att ttt cat gga ctt aaa aat ctg gtg cat ata cca gaa 528  
Leu Val Met Ile Phe His Gly Leu Lys Asn Leu Val His Ile Pro Glu  
165 170 175

aat aat tta att ata ttt tgg atg ata cct tct att tta agt tca gta 576  
Asn Asn Leu Ile Ile Phe Trp Met Ile Pro Ser Ile Leu Ser Ser Val  
180 185 190

caa cta ttt tat ttt ggt aca ttt ttg cct cat aaa aag cta gaa ggt 624  
Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Lys Lys Leu Glu Gly  
195 200 205

ggt tat act aac ccc cat tgt gcg cgc agt atc cca tta cct ctt ttt 672  
Gly Tyr Thr Asn Pro His Cys Ala Arg Ser Ile Pro Leu Pro Leu Phe  
210 215 220

tgg tct ttt gtt act tgt tat cac ttc ggc tac cac aag gaa cat cac 720  
Trp Ser Phe Val Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Lys Glu His His  
225 230 235 240

gaa tac cct caa ctt cct tgg tgg aaa tta cct gaa gct cac aaa ata 768  
Glu Tyr Pro Gln Leu Pro Trp Trp Lys Leu Pro Glu Ala His Lys Ile  
245 250 255

tct tta taa 777  
Ser Leu

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 258

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nostoc sp.

&lt;400&gt; 48

Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser Glu Lys Leu Val Leu  
1 5 10 15

Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile Asn Lys Gly Ile Phe  
20 25 30

Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile Ser Leu Ile Leu Leu  
35 40 45

Leu Ser Ile Asp Thr Ser Ile Ile His Lys Ser Leu Leu Gly Ile Ala  
50 55 60

Met Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His  
65 70 75 80

Asp Ala Met His Gly Val Val Tyr Pro Lys Asn Pro Arg Ile Asn Asn  
85 90 95

Phe Ile Gly Lys Leu Thr Leu Ile Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Lys  
100 105 110

Asp Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Gly His Pro Gly Thr Asp  
115 120 125

Leu Asp Pro Asp Tyr Tyr Asn Gly His Pro Gln Asn Phe Phe Leu Trp  
130 135 140

Tyr Leu His Phe Met Lys Ser Tyr Trp Arg Trp Thr Gln Ile Phe Gly  
145 150 155 160

Leu Val Met Ile Phe His Gly Leu Lys Asn Leu Val His Ile Pro Glu  
165 170 175

Asn Asn Leu Ile Ile Phe Trp Met Ile Pro Ser Ile Leu Ser Ser Val  
180 185 190

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Lys Lys Leu Glu Gly  
195 200 205



Gly Tyr Thr Asn Pro His Cys Ala Arg Ser Ile Pro Leu Pro Leu Phe  
 210 215 220

Trp Ser Phe Val Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Lys Glu His His  
 225 230 235 240

Glu Tyr Pro Gln Leu Pro Trp Trp Lys Leu Pro Glu Ala His Lys Ile  
 245 250 255

Ser Leu

<210> 49

<211> 831

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (831)

<223>

<400> 49

atg cca tcc gag tcg tca gac gca gct cgt cct gtg ttg aag cac gcc 48  
 Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Val Leu Lys His Ala  
 1 5 10 15

tat aaa cct cca gca tct gac gcc aag ggc atc act atg gcg ctg acc 96  
 Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr  
 20 25 30

atc att ggc acc tgg acc gca gtg ttt tta cac gca ata ttc caa atc 144  
 Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile  
 35 40 45

agg cta ccg aca tcc atg gac cag ctt cac tgg ttg cct gtg tcc gaa 192



Trp Trp Gln Leu Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val  
 260 265 270

cct gcc ttg gca tga  
 Pro Ala Leu Ala  
 275

831

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 276

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Haematococcus pluvialis

&lt;400&gt; 50

Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Val Leu Lys His Ala  
 1 5 10 15

Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr  
 20 25 30

Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile  
 35 40 45

Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu  
 50 55 60

Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala  
 65 70 75 80

Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr  
 85 90 95

Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg Asn Arg Gln Leu  
 100 105 110

Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp  
 115 120 125

Tyr Ser Met His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys  
130 135 140

Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe Ala  
145 150 155 160

Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala  
165 170 175

Trp Trp Ala Val Val Met Gln Thr Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu  
180 185 190

Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe  
195 200 205

Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala Ala  
210 215 220

Gly Ser Gln Val Met Ser Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala Ser  
225 230 235 240

Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu Phe Ala Pro  
245 250 255

Trp Trp Gln Leu Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val  
260 265 270

Pro Ala Leu Ala  
275

<210> 51

<211> 729

<212> DNA

<213> Paracoccus sp. MBIC1143

<220>

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (729)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 51

atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc acc agc ctg 48  
 Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu  
 1 5 10 15

atc gtc tcg ggc ggc atc atc gcc gct tgg ctg gcc ctg cat gtg cat 96  
 Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His  
 20 25 30

gcg ctg tgg ttt ctg gac gca gcg gcg cat ccc atc ctg gcg atc gca 144  
 Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala  
 35 40 45

aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg 192  
 Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala  
 50 55 60

cat gac gcg atg cac ggg tcg gtg gtg ccg ggg cgt ccg cgc gcc aat 240  
 His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn  
 65 70 75 80

gcg gcg atg ggc cag ctt gtc ctg tgg ctg tat gcc gga ttt tcg tgg 288  
 Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp  
 85 90 95

cgc aag atg atc gtc aag cac atg gcc cat cac cgc cat gcc gga acc 336  
 Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr  
 100 105 110

gac gac gac ccc gat ttc gac cat ggc ggc ccg gtc cgc tgg tac gcc 384  
 Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala  
 115 120 125

cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc 432  
 Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro  
 130 135 140

gtc atc gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctt ggg gat cgc tgg atg tac 480  
 Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr  
 145 150 155 160

gtg gtc ttc tgg ccg ctg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc 528  
 Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe  
 165 170 175



Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp  
                             85                            90                            95

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr  
                             100                            105                            110

Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala  
                             115                            120                            125

Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro  
                             130                            135                            140

Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr  
                             145                            150                            155                            160

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe  
                             165                            170                            175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro  
                             180                            185                            190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu  
                             195                            200                            205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His  
                             210                            215                            220

Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp  
                             225                            230                            235                            240

Thr Ala

<210> 53

<211> 735

<212> DNA

<213> Brevundimonas aurantiaca

**<220>**

**<221> CDS**

<222> (1) .. (735)

**<223>**

**<400> 53**

atg acc gcc gcc gtc gcc gag cca cgc acc gtc ccg cgc cag acc tgg 48  
Met Thr Ala Ala Val Ala Glu Pro Arg Thr Val Pro Arg Gln Thr Trp  
1 5 10 15

atc ggt ctg acc ctg gcg gga atg atc gtg gcg gga tgg gcg gtt ctg 96  
Ile Gly Leu Thr Leu Ala Gly Met Ile Val Ala Gly Trp Ala Val Leu  
20 25 30

cat gtc tac ggc gtc tat ttt cac cga tgg ggg ccg ttg acc ctg gtg 144  
His Val Tyr Gly Val Tyr Phe His Arg Trp Gly Pro Leu Thr Leu Val  
35 40 45

atc gcc ccg gcg atc gtg gcg gtc cag acc tgg ttg tcg gtc ggc ctt 192  
Ile Ala Pro Ala Ile Val Ala Val Gln Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu  
50 55 60

ttc atc gtc gcc cat gac gcc atg tac ggc tcc ctg gcg ccg gga cgg 240  
Phe Ile Val Ala His Asp Ala Met Tyr Gly Ser Leu Ala Pro Gly Arg  
65 70 75 80

cgc egg ctg aac gcc gca gtc ggc cgg ctg acc ctg ggg ctc tat gcg      288  
 Pro Arg Leu Asn Ala Ala Val Gly Arg Leu Thr Leu Gly Leu Tyr Ala  
               85                          90                          95

ggc ttc cgc ttc gat cgg ctg aag acg gcg cac cac gcc cac cac gcc 336  
Gly Phe Arg Phe Asp Arg Leu Lys Thr Ala His His Ala His His Ala  
100 105 110

gcg ccc ggc acg gcc gac gac ccg gat ttt cac gcc ccg gcg ccc cgc 384  
Ala Pro Gly Thr Ala Asp Asp Pro Asp Phe His Ala Pro Ala Pro Arg  
115 120 125

gcc ttc ctt ccc tgg ttc ctg aac ttc ttt cgc acc tat ttc ggc tgg 432  
Ala Phe Leu Pro Trp Phe Leu Asn Phe Phe Arg Thr Tyr Phe Gly Trp  
130 135 140

cgc gag atg gcg gtc ctg acc gcc ctg gtc ctg atc gcc ctc ttc ggc 480



Arg Glu Met Ala Val Leu Thr Ala Leu Val Leu Ile Ala Leu Phe Gly  
 145 150 155 160

ctg ggg gcg cgg ccg gcc aat ctc ctg acc ttc tgg gcc gcg ccg gcc 528  
 Leu Gly Ala Arg Pro Ala Asn Leu Leu Thr Phe Trp Ala Ala Pro Ala  
 165 170 175

ctg ctt tca gcg ctt cag ctc ttc acc ttc ggc acc tgg ctg ccg cac 576  
 Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Thr Trp Leu Pro His  
 180 185 190

cgc cac acc gac cag ccg ttc gcc gac gcg cac cac gcc cgc agc agc 624  
 Arg His Thr Asp Gln Pro Phe Ala Asp Ala His His Ala Arg Ser Ser  
 195 200 205

ggc tac ggc ccc gtg ctt tcc ctg ctc acc tgt ttc cac ttc ggc cgc 672  
 Gly Tyr Gly Pro Val Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Arg  
 210 215 220

cac cac gaa cac cat ctg agc ccc tgg cgg ccc tgg tgg cgt ctg tgg 720  
 His His Glu His His Leu Ser Pro Trp Arg Pro Trp Trp Arg Leu Trp  
 225 230 235 240

cgc ggc gag tct tga 735  
 Arg Gly Glu Ser

<210> 54

<211> 244

<212> PRT

<213> Brevundimonas aurantiaca

<400> 54

Met Thr Ala Ala Val Ala Glu Pro Arg Thr Val Pro Arg Gln Thr Trp  
 1 5 10 15

Ile Gly Leu Thr Leu Ala Gly Met Ile Val Ala Gly Trp Ala Val Leu  
 20 25 30

His Val Tyr Gly Val Tyr Phe His Arg Trp Gly Pro Leu Thr Leu Val  
 35 40 45

Ile Ala Pro Ala Ile Val Ala Val Gln Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu  
50 55 60

Phe Ile Val Ala His Asp Ala Met Tyr Gly Ser Leu Ala Pro Gly Arg  
65 70 75 80

Pro Arg Leu Asn Ala Ala Val Gly Arg Leu Thr Leu Gly Leu Tyr Ala  
85 90 95

Gly Phe Arg Phe Asp Arg Leu Lys Thr Ala His His Ala His His Ala  
100 105 110

Ala Pro Gly Thr Ala Asp Asp Pro Asp Phe His Ala Pro Ala Pro Arg  
115 120 125

Ala Phe Leu Pro Trp Phe Leu Asn Phe Phe Arg Thr Tyr Phe Gly Trp  
130 135 140

Arg Glu Met Ala Val Leu Thr Ala Leu Val Leu Ile Ala Leu Phe Gly  
145 150 155 160

Leu Gly Ala Arg Pro Ala Asn Leu Leu Thr Phe Trp Ala Ala Pro Ala  
165 170 175

Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Thr Trp Leu Pro His  
180 185 190

Arg His Thr Asp Gln Pro Phe Ala Asp Ala His His Ala Arg Ser Ser  
195 200 205

Gly Tyr Gly Pro Val Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Arg  
210 215 220

His His Glu His His Leu Ser Pro Trp Arg Pro Trp Trp Arg Leu Trp  
225 230 235 240

Arg Gly Glu Ser

**<210> 55**

<211> 690

**<212> DNA**

<213> Nodularia spumigena NSOR10

**<220>**

<221> CDS

<222> (1) .. (690)

**<223>**

**<400> 55**

atg gcg atc gcc att att agt ata tgg gct atc agc cta ggt ttg tta 48  
Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile Ser Leu Gly Leu Leu  
1 5 10 15

ctt tat att gat ata tcc caa ttc aag ttt tgg atg ttg tta ccg ctc' 96  
 Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Leu  
 20 25 30

ata ttt tgg caa aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca gct cat      144  
Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His  
          35                      40                      45

```
gat gcc atg cat ggg gta gtt ttt ccc aaa aat ccc aaa atc aac cat      192
Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn Pro Lys Ile Asn His
      50                      55                      60
```

ttc att ggc tca ttg tgc ctg ttt ctt tat ggt ctt tta cct tat caa 240  
Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln  
65 70 75 80

aaa ctt tta aaa aag cat tgg cta cat cac cat aat cca gcc agt gaa 288  
Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Glu  
85 90 95

aca gat cca gat ttt cac aac ggg aag cag aaa aac ttt ttt gct tgg 336  
Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys Asn Phe Phe Ala Trp  
100 105 110

tat	tta	tat	ttt	atg	aag	cgt	tac	tgg	agt	tgg	tta	caa	att	atc	aca	384
Tyr	Leu	Tyr	Phe	Met	Lys	Arg	Tyr	Trp	Ser	Trp	Leu	Gln	Ile	Ile	Thr	
			115				120					125				

tta atg att att tat aac tta cta aaa tat ata tgg cat ttt cca gag 432  
 Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Trp His Phe Pro Glu  
 130 135 140

gat aat atg act tat ttt tgg gta gtt ccc tca att tta agt tct tta 480  
 Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser Ile Leu Ser Ser Leu  
 145 150 155 160

caa tta ttt tat ttt gga act ttt cta ccc cac agt gag cct gta gaa 528  
 Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Val Glu  
 165 170 175

ggt tat aaa gag cct cat cgt tcc caa act att agc cgt ccc att tgg 576  
 Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp  
 180 185 190

tgg tca ttt ata act tgt tac cat ttt ggt tat cat tac gaa cat cat 624  
 Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Tyr Glu His His  
 195 200 205

gaa tac ccc cat gtt cct tgg tgg caa tta cca gaa att tat aaa atg 672  
 Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Met  
 210 215 220

tct aaa tca aat ttg tga 690  
 Ser Lys Ser Asn Leu  
 225

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 229

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nodularia spumigena NSOR10

&lt;400&gt; 56

Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile Ser Leu Gly Leu Leu  
 1 5 10 15

Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Leu  
 20 25 30

Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His  
 35 40 45

Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn Pro Lys Ile Asn His  
 50 55 60

Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln  
 65 70 75 80

Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Glu  
 85 90 95

Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys Asn Phe Phe Ala Trp  
 100 105 110

Tyr Leu Tyr Phe Met Lys Arg Tyr Trp Ser Trp Leu Gln Ile Ile Thr  
 115 120 125

Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Trp His Phe Pro Glu  
 130 135 140

Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser Ile Leu Ser Ser Leu  
 145 150 155 160

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Val Glu  
 165 170 175

Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp  
 180 185 190

Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Tyr Glu His His  
 195 200 205

Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Met  
 210 215 220

Ser Lys Ser Asn Leu  
 225

<210> 57

&lt;211&gt; 789

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Nostoc punctiforme ATCC 29133

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (789)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 57

ttg aat ttt tgt gat aaa cca gtt agc tat tat gtt gca ata gag caa	48
Leu Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln	
1 5 10 15	

tta agt gct aaa gaa gat act gtt tgg ggg ctg gtg att gtc ata gta	96
Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val	
20 25 30	

att att agt ctt tgg gta gct agt ttg gct ttt tta cta gct att aat	144
Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn	
35 40 45	

tat gcc aaa gtc cca att tgg ttg ata cct att gca ata gtt tgg caa	192
Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln	
50 55 60	

atg ttc ctt tat aca ggg cta ttt att act gca cat gat gct atg cat	240
Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His	
65 70 75 80	

ggg tca gtt tat cgt aaa aat ccc aaa att aat aat ttt atc ggt tca	288
Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser	
85 90 95	

cta gct gta gcg ctt tac gct gtg ttt cca tat caa cag atg tta aag	336
Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys	
100 105 110	

aat cat tgc tta cat cat cgt cat cct gct agc gaa gtt gac cca gat	384
Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp	
115 120 125	

ttt cat gat ggt aag aga aca aac gct att ttc tgg tat ctc cat ttc	432
---	-----

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe	
130 135 140	
atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata gta cta act atc cta	480
Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu	
145 150 155 160	
ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat caa ata aat ctc atc	528
Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile	
165 170 175	
tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc att caa ctg ttt tat	576
Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr	
180 185 190	
ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag aaa gga tat gtt tat	624
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr	
195 200 205	
ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act ttt ttg tca ttt atc	672
Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile	
210 215 220	
gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat cat gag tat ccc cat	720
Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His	
225 230 235 240	
gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag cag aga gta ttc aac	768
Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn	
245 250 255	
aat tca gta acc aat tcg taa	789
Asn Ser Val Thr Asn Ser	
260	

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 262

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nostoc punctiforme ATCC 29133

&lt;400&gt; 58

Leu Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val  
20 25 30

Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn  
35 40 45

Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln  
50 55 60

Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His  
65 70 75 80

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser  
85 90 95

Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys  
100 105 110

Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp  
115 120 125

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe  
130 135 140

Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu  
145 150 155 160

Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile  
165 170 175

Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr  
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr  
195 200 205

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile  
210 215 220



Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
 225 230 235 240

Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn  
 245 250 255

Asn Ser Val Thr Asn Ser  
 260

<210> 59

<211> 762

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(762)

<223>

<400> 59  
 gtg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa gca aaa ctg act cca 48  
 Val Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro  
 1 5 10 15  
 gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt ttc att gct att gtc 96  
 Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val  
 20 25 30  
 att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta tta ctt tcc ctt gac 144  
 Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Leu Ser Leu Asp  
 35 40 45  
 atc tca aag cta aaa ttt tgg atg tta ttg cct gtt ata cta tgg caa 192  
 Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln  
 50 55 60  
 aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct cat gat gcc atg cat 240  
 Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His  
 65 70 75 80

ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat cat ttg att gga aca 288  
 Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr  
 85 90 95

ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat caa aaa cta ttg aaa 336  
 Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys  
 100 105 110

aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc tca ata gac ccg gat 384  
 Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp  
 115 120 125

ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct tgg tat ttt cat ttt 432  
 Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe  
 130 135 140

atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att gcg ttg act att att 480  
 Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile  
 145 150 155 160

tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca agt gat aat cta act 528  
 Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr  
 165 170 175

tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca tta caa tta ttc tat 576  
 Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr  
 180 185 190

ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata ggg ggt tat gtt cag 624  
 Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln  
 195 200 205

cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att tgg tgg tca ttt atc 672  
 Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile  
 210 215 220

acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat cac gaa tat cct cat 720  
 Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
 225 230 235 240

att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa gca aaa tag 762  
 Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys  
 245 250

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 253

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nostoc punctiforme ATCC 29133

&lt;400&gt; 60

Val Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro  
 1 5 10 15

Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val  
 20 25 30

Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Leu Ser Leu Asp  
 35 40 45

Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln  
 50 55 60

Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His  
 65 70 75 80

Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr  
 85 90 95

Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys  
 100 105 110

Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp  
 115 120 125

Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe  
 130 135 140

Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile  
 145 150 155 160

Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr  
 165 170 175

Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr  
 180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln  
 195 200 205

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile  
 210 215 220

Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
 225 230 235 240

Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys  
 245 250

<210> 61

<211> 1536

<212> DNA

<213> Deinococcus radiodurans R1

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(1536)

<223>

<400> 61

atg ccg gat tac gac ctg atc gtc atg ggc gcg ggc cac aac gcg ctg 48  
 Met Pro Asp Tyr Asp Leu Ile Val Met Gly Ala Gly His Asn Ala Leu  
 1 5 10 15

gtg act gct gcc tac gcc gcc cgg gcg ggc ctg aaa gtc ggc gtg ttc 96  
 Val Thr Ala Ala Tyr Ala Ala Arg Ala Gly Leu Lys Val Gly Val Phe  
 20 25 30

gag cgg cgg cac ctc gtc ggc ggg gcg gtc agc acc gag gag gtc gtg 144  
 Glu Arg Arg His Leu Val Gly Gly Ala Val Ser Thr Glu Glu Val Val  
 35 40 45

ccc ggt tac cgc ttc gac tac ggc ggc agc gcc cac atc ctg att cgg 192

Pro Gly Tyr Arg Phe Asp Tyr Gly Gly Ser Ala His Ile Leu Ile Arg	
50 55 60	
atg acg ccc atc gtg cgc gaa ctc gaa ctc acg cgg cac ggg ctg cat	240
Met Thr Pro Ile Val Arg Glu Leu Glu Leu Thr Arg His Gly Leu His	
65 70 75 80	
tac ctc gaa gtg gac cct atg ttt cac gct tcc gac ggt gaa acg ccc	288
Tyr Leu Glu Val Asp Pro Met Phe His Ala Ser Asp Gly Glu Thr Pro	
85 90 95	
tgg ttc att cac cgc gac gcc ggg cgg acc atc cgc gaa ctg gac gaa	336
Trp Phe Ile His Arg Asp Ala Gly Arg Thr Ile Arg Glu Leu Asp Glu	
100 105 110	
aag ttt ccc ggg cag ggc gac gcc tac ggg cgc ttt ctc gac gat tgg	384
Lys Phe Pro Gly Gln Gly Asp Ala Tyr Gly Arg Phe Leu Asp Asp Trp	
115 120 125	
aca ccc ttc gcg cgc gcc gtg gcc gac ctg ttc aac tcg gcg ccg ggg	432
Thr Pro Phe Ala Arg Ala Val Ala Asp Leu Phe Asn Ser Ala Pro Gly	
130 135 140	
ccg ctc gac ctg ggc aaa atg gtg atg cgc agc ggc cag ggc aag gac	480
Pro Leu Asp Leu Gly Lys Met Val Met Arg Ser Gly Gln Gly Lys Asp	
145 150 155 160	
tgg aac gag cag ctc ccg cgc atc ctg cgg ccc tac ggc gac gtg gcg	528
Trp Asn Glu Gln Leu Pro Arg Ile Leu Arg Pro Tyr Gly Asp Val Ala	
165 170 175	
cgc gag tac ttc agc gag gag cgc gtg cgg gct ccc ctg acc tgg atg	576
Arg Glu Tyr Phe Ser Glu Glu Arg Val Arg Ala Pro Leu Thr Trp Met	
180 185 190	
gcg gcc cag agc ggc ccc cca ccc tcg gac ccg ctg agc gcg ccc ttt	624
Ala Ala Gln Ser Gly Pro Pro Pro Ser Asp Pro Leu Ser Ala Pro Phe	
195 200 205	
ttg ctg tgg cac ccg ctc tac cac gaa ggc ggc gtg gcg cgg ccc aaa	672
Leu Leu Trp His Pro Leu Tyr His Glu Gly Gly Val Ala Arg Pro Lys	
210 215 220	
ggc ggc agc ggc ggc ctg acc aaa gcc ctg cgc cgg gcc acc gag gcc	720
Gly Gly Ser Gly Gly Thr Lys Ala Leu Arg Arg Ala Thr Glu Ala	
225 230 235 240	
gaa ggc ggc gag gtc ttc acc gac gcg ccg gtc aag gaa att ctg gtc	768
Glu Gly Gly Glu Val Phe Thr Asp Ala Pro Val Lys Glu Ile Leu Val	
245 250 255	
aag gac ggc aag gcg cag ggc atc cgg ctg gaa agc ggc gag acg tac	816

Lys Asp Gly	Lys Ala Gln Gly Ile Arg Leu Glu Ser Gly Glu Thr Tyr	
260	265	270
acc gcc cgc gcc gtc gtg tgc ggc gtc cac atc ctg acc act gcg aat	864	
Thr Ala Arg Ala Val Val Ser Gly Val His Ile Leu Thr Thr Ala Asn		
275	280	285
gcc ctg ccc gcc gaa tat gtc cct agc gcc gcc agg aat gtg cgc gtg	912	
Ala Leu Pro Ala Glu Tyr Val Pro Ser Ala Ala Arg Asn Val Arg Val		
290	295	300
ggc aac ggc ttc ggc atg att ttg cgc ctc gcc ctc agt gaa aaa gtc	960	
Gly Asn Gly Phe Gly Met Ile Leu Arg Leu Ala Leu Ser Glu Lys Val		
305	310	315
aaa tac cgt cac cac acc gag ccc gac tca cgc atc ggc ctg gga ttg	1008	
Lys Tyr Arg His His Thr Glu Pro Asp Ser Arg Ile Gly Leu Gly Leu		
325	330	335
ctg atc aaa aac gag cgg caa atc atg cag ggc tac ggc gaa tac ctc	1056	
Leu Ile Lys Asn Glu Arg Gln Ile Met Gln Gly Tyr Gly Glu Tyr Leu		
340	345	350
gcc ggg cag ccc acc acc gac ccg ccc ctc gtc gcc atg agc ttc agc	1104	
Ala Gly Gln Pro Thr Thr Asp Pro Pro Leu Val Ala Met Ser Phe Ser		
355	360	365
gcg gtg gac gac tgc ctc gcc cca ccg aac ggc gac gtg ttg tgg ctg	1152	
Ala Val Asp Asp Ser Leu Ala Pro Pro Asn Gly Asp Val Leu Trp Leu		
370	375	380
tgg gcg cag tac tac ccc ttc gag ctc gcc acc ggg agc tgg gaa acg	1200	
Trp Ala Gln Tyr Tyr Pro Phe Glu Leu Ala Thr Gly Ser Trp Glu Thr		
385	390	395
cgc acc gcc gaa gcg cgg gag aac atc ctg cgg gcc ttt gag cac tac	1248	
Arg Thr Ala Glu Ala Arg Glu Asn Ile Leu Arg Ala Phe Glu His Tyr		
405	410	415
gcg ccg ggc acc cgc gac acg att gtg ggc gaa ctc gtg cag acg ccg	1296	
Ala Pro Gly Thr Arg Asp Thr Ile Val Gly Glu Leu Val Gln Thr Pro		
420	425	430
cag tgg ctg gaa acc aac ctc ggc ctg cac cgg ggc aac gtg atg cac	1344	
Gln Trp Leu Glu Thr Asn Leu Gly Leu His Arg Gly Asn Val Met His		
435	440	445
ctg gaa atg tcc ttc gac cag atg ttc tcc ttc cgc ccc tgg ctg aaa	1392	
Leu Glu Met Ser Phe Asp Gln Met Phe Ser Phe Arg Pro Trp Leu Lys		
450	455	460
gcg agc cag tac cgc tgg ccg ggc gtg cag ggg ctg tac ctc acc ggc	1440	

Ala Ser Gln Tyr Arg Trp Pro Gly Val Gln Gly Leu Tyr Leu Thr Gly  
 465 470 475 480

gcc agc acc cac ccc ggc gga ggc atc atg ggc gcc tcg gga cgc aac 1488  
 Ala Ser Thr His Pro Gly Gly Gly Ile Met Gly Ala Ser Gly Arg Asn  
 485 490 495

gcg gcg cgg gtc atc gtg aag gac ctg acg cgg agg cgc tgg aaa tga 1536  
 Ala Ala Arg Val Ile Val Lys Asp Leu Thr Arg Arg Arg Trp Lys  
 500 505 510

<210> 62

<211> 511

<212> PRT

<213> Deinococcus radiodurans R1

<400> 62

Met Pro Asp Tyr Asp Leu Ile Val Met Gly Ala Gly His Ash Ala Leu  
 1 5 10 15

Val Thr Ala Ala Tyr Ala Ala Arg Ala Gly Leu Lys Val Gly Val Phe  
 20 25 30

Glu Arg Arg His Leu Val Gly Gly Ala Val Ser Thr Glu Glu Val Val  
 35 40 45

Pro Gly Tyr Arg Phe Asp Tyr Gly Gly Ser Ala His Ile Leu Ile Arg  
 50 55 60

Met Thr Pro Ile Val Arg Glu Leu Glu Leu Thr Arg His Gly Leu His  
 65 70 75 80

Tyr Leu Glu Val Asp Pro Met Phe His Ala Ser Asp Gly Glu Thr Pro  
 85 90 95

Trp Phe Ile His Arg Asp Ala Gly Arg Thr Ile Arg Glu Leu Asp Glu  
 100 105 110

Lys Phe Pro Gly Gln Gly Asp Ala Tyr Gly Arg Phe Leu Asp Asp Trp  
115 120 125

Thr Pro Phe Ala Arg Ala Val Ala Asp Leu Phe Asn Ser Ala Pro Gly  
130 135 140

Pro Leu Asp Leu Gly Lys Met Val Met Arg Ser Gly Gln Gly Lys Asp  
145 150 155 160

Trp Asn Glu Gln Leu Pro Arg Ile Leu Arg Pro Tyr Gly Asp Val Ala  
165 170 175

Arg Glu Tyr Phe Ser Glu Glu Arg Val Arg Ala Pro Leu Thr Trp Met  
180 185 190

Ala Ala Gln Ser Gly Pro Pro Pro Ser Asp Pro Leu Ser Ala Pro Phe  
195 200 205

Leu Leu Trp His Pro Leu Tyr His Glu Gly Gly Val Ala Arg Pro Lys  
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Leu Thr Lys Ala Leu Arg Arg Ala Thr Glu Ala  
225 230 235 240

Glu Gly Gly Glu Val Phe Thr Asp Ala Pro Val Lys Glu Ile Leu Val  
245 250 255

Lys Asp Gly Lys Ala Gln Gly Ile Arg Leu Glu Ser Gly Glu Thr Tyr  
260 265 270

Thr Ala Arg Ala Val Val Ser Gly Val His Ile Leu Thr Thr Ala Asn  
275 280 285

Ala Leu Pro Ala Glu Tyr Val Pro Ser Ala Ala Arg Asn Val Arg Val  
290 295 300

Gly Asn Gly Phe Gly Met Ile Leu Arg Leu Ala Leu Ser Glu Lys Val  
305 310 315 320



Lys Tyr Arg His His Thr Glu Pro Asp Ser Arg Ile Gly Leu Gly Leu  
325 330 335

Leu Ile Lys Asn Glu Arg Gln Ile Met Gln Gly Tyr Gly Glu Tyr Leu  
340 345 350

Ala Gly Gln Pro Thr Thr Asp Pro Pro Leu Val Ala Met Ser Phe Ser  
355 360 365

Ala Val Asp Asp Ser Leu Ala Pro Pro Asn Gly Asp Val Leu Trp Leu  
370 375 380

Trp Ala Gln Tyr Tyr Pro Phe Glu Leu Ala Thr Gly Ser Trp Glu Thr  
385 390 395 400

Arg Thr Ala Glu Ala Arg Glu Asn Ile Leu Arg Ala Phe Glu His Tyr  
405 410 415

Ala Pro Gly Thr Arg Asp Thr Ile Val Gly Glu Leu Val Gln Thr Pro  
420 425 430

Gln Trp Leu Glu Thr Asn Leu Gly Leu His Arg Gly Asn Val Met His  
435 440 445

Leu Glu Met Ser Phe Asp Gln Met Phe Ser Phe Arg Pro Trp Leu Lys  
450 455 460

Ala Ser Gln Tyr Arg Trp Pro Gly Val Gln Gly Leu Tyr Leu Thr Gly  
465 470 475 480

Ala Ser Thr His Pro Gly Gly Gly Ile Met Gly Ala Ser Gly Arg Asn  
485 490 495

Ala Ala Arg Val Ile Val Lys Asp Leu Thr Arg Arg Arg Trp Lys  
500 505 510

<210> 63

<211> 789

**<212> DNA**

<213> Künstliche Sequenz

**<220>**

<221> CDS

<222> (1) .. (789)

**<223>**

<400> 63																	
atg	aat	ttt	tgt	gat	aaa	cca	gtt	agc	tat	tat	gtt	gca	ata	gag	caa	48	
Met	Asn	Phe	Cys	Asp	Lys	Pro	Val	Ser	Tyr	Tyr	Val	Ala	Ile	Glu	Gln		
1				5				10					15				
tta	agt	gct	aaa	gaa	gat	act	gtt	tgg	ggg	ctg	gtg	att	gtc	ata	gta	96	
Leu	Ser	Ala	Lys	Glu	Asp	Thr	Val	Trp	Gly	Leu	Val	Ile	Val	Ile	Val		
			20					25				30					
att	att	agt	ctt	tgg	gta	gct	agt	ttg	gct	ttt	tta	cta	gct	att	aat	144	
Ile	Ile	Ser	Leu	Trp	Val	Ala	Ser	Leu	Ala	Phe	Leu	Leu	Ala	Ile	Asn		
		35				40					45						
tat	gcc	aaa	att	cat	aag	tgg	ttg	ata	cct	att	gca	ata	gtt	tgg	caa	192	
Tyr	Ala	Lys	Ile	His	Lys	Trp	Leu	Ile	Pro	Ile	Ala	Ile	Val	Trp	Gln		
	50					55					60						
atg	ttc	ctt	tat	aca	ggg	cta	ttt	att	act	gca	cat	gat	gct	atg	cat	240	
Met	Phe	Leu	Tyr	Thr	Gly	Leu	Phe	Ile	Thr	Ala	His	Asp	Ala	Met	His		
65					70					75				80			
ggg	tca	gtt	tat	cgt	aaa	aat	ccc	aaa	att	aat	aat	ttt	atc	ggg	tca	288	
Gly	Ser	Val	Tyr	Arg	Lys	Asn	Pro	Lys	Ile	Asn	Asn	Phe	Ile	Gly	Ser		
				85					90				95				
cta	gct	gta	gcg	ctt	tac	gct	gtg	ttt	cca	tat	caa	cag	atg	tta	aag	336	
Leu	Ala	Val	Ala	Leu	Tyr	Ala	Val	Phe	Pro	Tyr	Gln	Gln	Met	Leu	Lys		
			100					105					110				
aat	cat	tgc	tta	cat	cat	cgt	cat	cct	gct	agc	gaa	gtt	gac	cca	gat	384	
Asn	His	Cys	Leu	His	His	Arg	His	Pro	Ala	Ser	Glu	Val	Asp	Pro	Asp		
		115					120					125					
ttt	cat	gat	ggg	aag	aga	aca	aac	gct	att	ttc	tgg	tat	ctc	cat	ttc	432	
Phe	His	Asp	Gly	Lys	Arg	Thr	Asn	Ala	Ile	Phe	Trp	Tyr	Leu	His	Phe		
		130				135					140						

atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata gta cta act atc cta 480  
 Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu  
 145 150 155 160  
  
 ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat caa ata aat ctc atc 528  
 Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile  
 165 170 175  
  
 tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc att caa ctg ttt tat 576  
 Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr  
 180 185 190  
  
 ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag aaa gga tat gtt tat 624  
 Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr  
 195 200 205  
  
 ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act ttt ttg tca ttt atc 672  
 Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile  
 210 215 220  
  
 gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat cat gag tat ccc cat 720  
 Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
 225 230 235 240  
  
 gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag cag aga gta ttc aac 768  
 Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn  
 245 250 255  
  
 aat tca gta acc aat tcg taa 789  
 Asn Ser Val Thr Asn Ser  
 260

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 262

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;400&gt; 64

Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln  
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val  
 20 25 30

Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn  
35 40 45

Tyr Ala Lys Ile His Lys Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln  
50 55 60

Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His  
65 70 75 80

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser  
85 90 95

Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys  
100 105 110

Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp  
115 120 125

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe  
130 135 140

Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu  
145 150 155 160

Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile  
165 170 175

Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr  
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr  
195 200 205

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile  
210 215 220

Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
225 230 235 240

Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn  
 245 250 255

Asn Ser Val Thr Asn Ser  
 260

<210> 65

<211> 789

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(789)

<223>

<400> 65

atg aat ttt tgt gat aaa cca gtt agc tat tat gtt gca ata gag caa	48
Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln	
1 5 10 15	
tta agt gct aaa gaa gat act gtt tgg ggg ctg gtg att gtc ata gta	96
Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val	
20 25 30	
att att agt ctt tgg gta gct agt ttg gct ttt tta cta gct att aat	144
Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn	
35 40 45	
tat gcc aaa gtc cca att tgg ttg ata cct att gca ata gtt tgg caa	192
Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln	
50 55 60	
atg ttc ctt tat aca ggg cta ttt att act gca cat gat gct atg cat	240
Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His	
65 70 75 80	
ggg tca gtt tat cgt aaa aat ccc aaa att aat aat ttt atc ggt tca	288

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser	
85	90 95
cta gct gta gcg ctt tac gct gtg ttt cca tat caa cag atg tta aag	336
Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys	
100 105 110	
aat cat tgc tta cat cat cgt cat cct gct agc gat tta gac cca gat	384
Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp	
115 120 125	
ttt cat gat ggt aag aga aca aac gct att ttc tgg tat ctc cat ttc	432
Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe	
130 135 140	
atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata gta cta act atc cta	480
Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu	
145 150 155 160	
ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat caa ata aat ctc atc	528
Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile	
165 170 175	
tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc att caa ctg ttt tat	576
Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr	
180 185 190	
ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag aaa gga tat gtt tat	624
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr	
195 200 205	
ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act ttt ttg tca ttt atc	672
Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile	
210 215 220	
gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat cat gag tat ccc cat	720
Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His	
225 230 235 240	
gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag cag aga gta ttc aac	768
Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn	
245 250 255	
aat tca gta acc aat tcg taa	789
Asn Ser Val Thr Asn Ser	
260	

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 262

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;400&gt; 66

Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln  
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val  
 20 25 30

Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn  
 35 40 45

Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln  
 50 55 60

Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His  
 65 70 75 80

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser  
 85 90 95

Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys  
 100 105 110

Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp  
 115 120 125

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe  
 130 135 140

Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu  
 145 150 155 160

Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile  
 165 170 175

Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr  
 180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr  
 195 200 205

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile  
 210 215 220

Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
 225 230 235 240

Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn  
 245 250 255

Asn Ser Val Thr Asn Ser  
 260

<210> 67

<211> 762

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(762)

<223>

<400> 67

atg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa gca aaa ctg act cca 48  
 Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro  
 1 5 10 15

gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt ttc att gct att gtc 96  
 Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val  
 20 25 30



att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta tta ctt tcc ctt gac	144
Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Leu Ser Leu Asp	
35 40 45	
atc tca aag att cat aag tgg atg tta ttg cct gtt ata cta tgg caa	192
Ile Ser Lys Ile His Lys Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln	
50 55 60	
aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct cat gat gcc atg cat	240
Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His	
65 70 75 80	
ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat cat ttg att gga aca	288
Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr	
85 90 95	
ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat caa aaa cta ttg aaa	336
Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys	
100 105 110	
aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc tca ata gac ccg gat	384
Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp	
115 120 125	
ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct tgg tat ttt cat ttt	432
Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe	
130 135 140	
atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att gcg ttg act att att	480
Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile	
145 150 155 160	
tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca agt gat aat cta act	528
Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr	
165 170 175	
tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca tta caa tta ttc tat	576
Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr	
180 185 190	
ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata ggg ggt tat gtt cag	624
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln	
195 200 205	
cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att tgg tgg tca ttt atc	672
Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile	
210 215 220	
acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat cac gaa tat cct cat	720
Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His	
225 230 235 240	

att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa gca aaa tag 762  
 Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys  
 245 250

<210> 68

<211> 253

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<400> 68

Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro  
 1 5 10 15

Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val  
 20 25 30

Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Leu Ser Leu Asp  
 35 40 45

Ile Ser Lys Ile His Lys Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln  
 50 55 60

Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His  
 65 70 75 80

Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr  
 85 90 95

Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys  
 100 105 110

Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp  
 115 120 125

Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe  
 130 135 140

Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile  
 145 150 155 160

Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr  
 165 170 175

Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr  
 180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln  
 195 200 205

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile  
 210 215 220

Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
 225 230 235 240

Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys  
 245 250

<210> 69

<211> 762

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (762)

<223>

<400> 69

atg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa gca aaa ctg act cca

Met	Ile	Gln	Leu	Glu	Gln	Pro	Leu	Ser	His	Gln	Ala	Lys	Leu	Thr	Pro		
1			5						10					15			
gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt ttc att gct att gtc 96																	
Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val																	
20 25 30																	
att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta tta ctt tcc ctt gac 144																	
Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Leu Ser Leu Asp																	
35 40 45																	
atc tca aag cta aaa ttt tgg atg tta ttg cct gtt ata cta tgg caa 192																	
Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln																	
50 55 60																	
aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct cat gat gcc atg cat 240																	
Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His																	
65 70 75 80																	
ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat cat ttg att gga aca 288																	
Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr																	
85 90 95																	
ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat caa aaa cta ttg aaa 336																	
Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys																	
100 105 110																	
aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc gat tta gac ccg gat 384																	
Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp																	
115 120 125																	
ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct tgg tat ttt cat ttt 432																	
Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe																	
130 135 140																	
atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att gcg ttg act att att 480																	
Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile																	
145 150 155 160																	
tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca agt gat aat cta act 528																	
Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr																	
165 170 175																	
tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca tta caa tta ttc tat 576																	
Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr																	
180 185 190																	
ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata ggg ggt tat gtt cag 624																	
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln																	
195 200 205																	
cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att tgg tgg tca ttt atc 672																	

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile  
 210 215 220

acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat cac gaa tat cct cat 720  
 Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
 225 230 235 240

att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa gca aaa tag 762  
 Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys  
 245 250

<210> 70

<211> 253

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<400> 70

Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro  
 1 5 10 15

Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val  
 20 25 30

Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Ser Leu Asp  
 35 40 45

Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln  
 50 55 60

Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His  
 65 70 75 80

Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr  
 85 90 95

Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys  
 100 105 110

Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp  
115 120 125

Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe  
130 135 140

Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile  
145 150 155 160

Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr  
165 170 175

Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr  
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln  
195 200 205

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile  
210 215 220

Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His  
225 230 235 240

Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys  
245 250

<210> 71

<211> 804

<212> DNA

<213> Künstliche Variante

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (804)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 71

atg aaa acg aca aga tct att tcg tgg cca tcg act tgc tgg cat cac	48
Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His	
1 5 10 15	
cag ccg agt tgc tca agc tgg gtg gca aat gag ttc agc cct cag gcc	96
Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala	
20 25 30	
ctc aaa ggg ttg gct ctg gct ggt ctg att gga tca gcc tgg ctg ctc	144
Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu	
35 40 45	
tcc ctg ggc ctg agc tac acc ctg cca ctt gat cag acg cct ggg ctg	192
Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu	
50 55 60	
ttg att ggc agc ttg att ctg tgg cag acc ttt ctg cac acc ggg ctg	240
Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu His Thr Gly Leu	
65 70 75 80	
ttc atc gtt gcc cac gat tcc atg cac gcc agt ctg gtt ccg ggt cat	288
Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His	
85 90 95	
ccc gga ttg aac cgc tgg atc ggc aaa gtg tat ttg ttg gtg tat gca	336
Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala	
100 105 110	
ggc ttg tct tat gag cgt tgt tcc cgc aac cac aga cgt cat cac ctg	384
Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu	
115 120 125	
gca ccg gag acg ttc cag gat cct gac tac caa cgt tgc acc aat aac	432
Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn	
130 135 140	
aac atc cta gat tgg tat gtt cac ttc atg ggc aac tat ctg ggc atg	480
Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met	
145 150 155 160	
cgg caa ctg tta aat cta agc tgt ctt tgg ctg gcg cta atc att ctc	528
Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu	
165 170 175	
aac ggt tct gat ctc cct gct cag atc atg cat ctg ctg ttg ttc agc	576
Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser	
180 185 190	

gtt ctg ccg ttg atc atc agt tcc tgt caa ttg ttt cta gtg gga acc 624  
 Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr  
 195 200 205

tgg tta ccc cac cga cgt ggg gcc acg aca cga ccg ggc gtg aca acg 672  
 Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr  
 210 215 220

cgc agc ctg gct ttg cat cca gcc ctc tct ttc gca gct tgt tac aac 720  
 Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn  
 225 230 235 240

ttt ggc tat cat cgt gaa cat cat gaa tcg cct tcc aca ccc tgg ttt 768  
 Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe  
 245 250 255

cag ctg cca caa ctt cga aat gaa tca ttc act tga 804  
 Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr  
 260 265

<210> 72

<211> 267

<212> PRT

<213> Künstliche Variante

<400> 72

Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His  
 1 5 10 15

Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala  
 20 25 30

Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu  
 35 40 45

Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu  
 50 55 60

Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu His Thr Gly Leu  
 65 70 75 80



Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His  
85 90 95

Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala  
100 105 110

Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu  
115 120 125

Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn  
130 135 140

Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met  
145 150 155 160

Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu  
165 170 175

Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser  
180 185 190

Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr  
195 200 205

Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr  
210 215 220

Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn  
225 230 235 240

Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe  
245 250 255

Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr  
260 265

<210> 73

&lt;211&gt; 804

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Variante

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (804)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 73

atg	aaa	acg	aca	aga	tct	att	tcg	tgg	cca	tcg	act	tgc	tgg	cat	cac	48
Met	Lys	Thr	Thr	Arg	Ser	Ile	Ser	Trp	Pro	Ser	Thr	Cys	Trp	His	His	
1				5					10					15		

cag	ccg	agt	tgc	tca	agc	tgg	gtg	gca	aat	gag	ttc	agc	cct	cag	gcc	96
Gln	Pro	Ser	Cys	Ser	Ser	Trp	Val	Ala	Asn	Glu	Phe	Ser	Pro	Gln	Ala	
			20					25						30		

ctc	aaa	ggg	ttg	gct	ctg	gct	ggg	ctg	att	gga	tca	gcc	tgg	ctg	ctc	144
Leu	Lys	Gly	Leu	Ala	Leu	Ala	Gly	Leu	Ile	Gly	Ser	Ala	Trp	Leu	Leu	
		35					40					45				

tcc	ctg	ggc	ctg	agc	tac	acc	ctg	cca	ctt	gat	cag	acg	cct	ggg	ctg	192
Ser	Leu	Gly	Leu	Ser	Tyr	Thr	Leu	Pro	Leu	Asp	Gln	Thr	Pro	Gly	Leu	
	50					55					60					

ttg	att	ggc	agc	ttg	att	ctg	ctc	aga	gca	ttt	ctg	cac	acc	ggg	ctg	240
Leu	Ile	Gly	Ser	Leu	Ile	Leu	Leu	Arg	Ala	Phe	Leu	His	Thr	Gly	Leu	
65					70					75				80		

ttc	atc	gtt	gcc	cac	gat	tcc	atg	cac	gcc	agt	ctg	gtt	ccg	ggg	cat	288
Phe	Ile	Val	Ala	His	Asp	Ser	Met	His	Ala	Ser	Leu	Val	Pro	Gly	His	
				85					90					95		

ccc	gga	ttg	aac	cgc	tgg	atc	ggc	aaa	gtg	tat	ttg	ttg	gtg	tat	gca	336
Pro	Gly	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Gly	Lys	Val	Tyr	Leu	Leu	Val	Tyr	Ala	
			100					105						110		

ggc	ttg	tct	tat	gag	cgt	tgt	tcc	cgc	aac	cac	aga	cgt	cat	cac	gga	384
Gly	Leu	Ser	Tyr	Glu	Arg	Cys	Ser	Arg	Asn	His	Arg	Arg	His	His	Gly	
		115					120						125			

cat	cct	ggg	act	gat	tta	gat	cct	gac	tac	caa	cgt	tgc	acc	aat	aac	432
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

His	Pro	Gly	Thr	Asp	Leu	Asp	Pro	Asp	Tyr	Gln	Arg	Cys	Thr	Asn	Asn		
130						135					140						
aac	atc	cta	gat	tgg	tat	ggt	cac	ttc	atg	ggc	aac	tat	ctg	ggc	atg	480	
Asn	Ile	Leu	Asp	Trp	Tyr	Val	His	Phe	Met	Gly	Asn	Tyr	Leu	Gly	Met		
145				150					155				160				
cgg	caa	ctg	tta	aat	cta	agc	tgt	ctt	tgg	ctg	gcg	cta	atc	att	ctc	528	
Arg	Gln	Leu	Leu	Asn	Leu	Ser	Cys	Leu	Trp	Leu	Ala	Leu	Ile	Ile	Leu		
				165					170				175				
aac	ggt	tct	gat	ctc	cct	gct	cag	atc	atg	cat	ctg	ctg	ttg	ttc	agc	576	
Asn	Gly	Ser	Asp	Leu	Pro	Ala	Gln	Ile	Met	His	Leu	Leu	Leu	Phe	Ser		
			180					185					190				
ggt	ctg	ccg	ttg	atc	atc	agt	tcc	tgt	caa	ttg	ttt	cta	gtg	gga	acc	624	
Val	Leu	Pro	Leu	Ile	Ile	Ser	Ser	Cys	Gln	Leu	Phe	Leu	Val	Gly	Thr		
	195					200						205					
tgg	tta	ccc	cac	cga	cgt	ggg	gcc	acg	aca	cga	ccg	ggc	gtg	aca	acg	672	
Trp	Leu	Pro	His	Arg	Arg	Gly	Ala	Thr	Thr	Arg	Pro	Gly	Val	Thr	Thr		
	210					215					220						
cgc	agc	ctg	gct	ttg	cat	cca	gcc	ctc	tct	ttc	gca	gct	tgt	tac	aac	720	
Arg	Ser	Leu	Ala	Leu	His	Pro	Ala	Leu	Ser	Phe	Ala	Ala	Cys	Tyr	Asn		
225				230					235				240				
ttt	ggc	tat	cat	cgt	gaa	cat	cat	gaa	tgc	cct	tcc	aca	ccc	tgg	ttt	768	
Phe	Gly	Tyr	His	Arg	Glu	His	His	Glu	Ser	Pro	Ser	Thr	Pro	Trp	Phe		
				245				250					255				
cag	ctg	cca	caa	ctt	cga	aat	gaa	tca	ttc	act	tga					804	
Gln	Leu	Pro	Gln	Leu	Arg	Asn	Glu	Ser	Phe	Thr							
			260				265										

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 267

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Künstliche Variante

&lt;400&gt; 74

Met	Lys	Thr	Thr	Arg	Ser	Ile	Ser	Trp	Pro	Ser	Thr	Cys	Trp	His	His
1				5				10					15		

Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala  
 20 25 30

Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu  
 35 40 45

Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu  
 50 55 60

Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ala Phe Leu His Thr Gly Leu  
 65 70 75 80

Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His  
 85 90 95

Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala  
 100 105 110

Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Gly  
 115 120 125

His Pro Gly Thr Asp Leu Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn  
 130 135 140

Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met  
 145 150 155 160

Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu  
 165 170 175

Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser  
 180 185 190

Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr  
 195 200 205

Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr  
 210 215 220

Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn  
 225 230 235 240

Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe  
 245 250 255

Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr  
 260 265

<210> 75

<211> 804

<212> DNA

<213> Synechococcus WH8102

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(804)

<223>

<400> 75

atg aaa acg aca aga tct att tcg tgg cca tcg act tgc tgg cat cac 48  
 Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His  
 1 5 10 15

cag ccg agt tgc tca agc tgg gtg gca aat gag ttc agc cct cag gcc 96  
 Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala  
 20 25 30

ctc aaa ggg ttg gct ctg gct ggt ctg att gga tca gcc tgg ctg ctc 144  
 Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu  
 35 40 45

tcc ctg ggc ctg agc tac acc ctg cca ctt gat cag acg cct ggg ctg 192  
 Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu  
 50 55 60

ttg att ggc agc ttg att ctg ctc aga gca ttt ctg cac acc ggg ctg 240  
 Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ala Phe Leu His Thr Gly Leu  
 65 70 75 80

ttc atc gtt gcc cac gat tcc atg cac gcc agt ctg gtt ccg ggt cat	288
Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His	
85 90 95	
ccc gga ttg aac cgc tgg atc ggc aaa gtg tat ttg ttg gtg tat gca	336
Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala	
100 105 110	
ggc ttg tct tat gag cgt tgt tcc cgc aac cac aga cgt cat cac ctg	384
Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu	
115 120 125	
gca ccg gag acg ttc cag gat cct gac tac caa cgt tgc acc aat aac	432
Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn	
130 135 140	
aac atc cta gat tgg tat gtt cac ttc atg ggc aac tat ctg ggc atg	480
Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met	
145 150 155 160	
cgg caa ctg tta aat cta agc tgt ctt tgg ctg gcg cta atc att ctc	528
Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu	
165 170 175	
aac ggt tct gat ctc cct gct cag atc atg cat ctg ctg ttg ttc agc	576
Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser	
180 185 190	
gtt ctg ccg ttg atc atc agt tcc tgt caa ttg ttt cta gtg gga acc	624
Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr	
195 200 205	
tgg tta ccc cac cga cgt ggg gcc acg aca cga ccg ggc gtg aca acg	672
Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr	
210 215 220	
cgc agc ctg gct ttg cat cca gcc ctc tct ttc gca gct tgt tac aac	720
Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn	
225 230 235 240	
ttt ggc tat cat cgt gaa cat cat gaa tcg cct tcc aca ccc tgg ttt	768
Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe	
245 250 255	
cag ctg cca caa ctt cga aat gaa tca ttc act tga	804
Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr	
260 265	

&lt;211&gt; 267

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Synechococcus WH8102

&lt;400&gt; 76

Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His  
 1 5 10 15

Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala  
 20 25 30

Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu  
 35 40 45

Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu  
 50 55 60

Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ala Phe Leu His Thr Gly Leu  
 65 70 75 80

Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His  
 85 90 95

Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala  
 100 105 110

Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu  
 115 120 125

Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn  
 130 135 140

Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met  
 145 150 155 160

Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu  
 165 170 175

Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser  
 180 185 190

Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr  
 195 200 205

Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr  
 210 215 220

Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn  
 225 230 235 240

Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe  
 245 250 255

Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr  
 260 265

<210> 77

<211> 1608

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

<220>

<221> CDS

<222> (3) .. (971)

<223>

<400> 77

ct aca ttt cac aag ccc gtg agc ggt gca agc gct ctg ccc cac atc 47  
 Thr Phe His Lys Pro Val Ser Gly Ala Ser Ala Leu Pro His Ile  
 1 5 10 15

ggc cca cct cct cat ctc cat cgg tca ttt gct gct acc acg atg ctg 95



Gly	Pro	Pro	Pro	His	Leu	His	Arg	Ser	Phe	Ala	Ala	Thr	Thr	Met	Leu	
				20					25					30		
tcg	aag	ctg	cag	tca	atc	agc	gtc	aag	gcc	cgc	cgc	gtt	gaa	cta	gcc	143
Ser	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Ser	Val	Lys	Ala	Arg	Arg	Val	Glu	Leu	Ala	
			35					40					45			
cgc	gac	atc	acg	cgg	ccc	aaa	gtc	tgc	ctg	cat	gct	cag	cgg	tgc	tcg	191
Arg	Asp	Ile	Thr	Arg	Pro	Lys	Val	Cys	Leu	His	Ala	Gln	Arg	Cys	Ser	
			50				55					60				
tta	gtt	cgg	ctg	cga	gtg	gca	gca	cca	cag	aca	gag	gag	gcg	ctg	gga	239
Leu	Val	Arg	Leu	Arg	Val	Ala	Ala	Pro	Gln	Thr	Glu	Glu	Ala	Leu	Gly	
	65					70					75					
acc	gtg	cag	gct	gcc	ggc	gcg	ggc	gat	gag	cac	agc	gcc	gat	gta	gca	287
Thr	Val	Gln	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Asp	Glu	His	Ser	Ala	Asp	Val	Ala	
	80				85				90					95		
ctc	cag	cag	ctt	gac	cgg	gct	atc	gca	gag	cgt	cgt	gcc	cgg	cgc	aaa	335
Leu	Gln	Gln	Leu	Asp	Arg	Ala	Ile	Ala	Glu	Arg	Arg	Ala	Arg	Arg	Lys	
				100					105					110		
cgg	gag	cag	ctg	tca	tac	cag	gct	gcc	gcc	att	gca	gca	tca	att	ggc	383
Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Tyr	Gln	Ala	Ala	Ala	Ile	Ala	Ala	Ser	Ile	Gly	
			115					120					125			
gtg	tca	ggc	att	gcc	atc	ttc	gcc	acc	tac	ctg	aga	ttt	gcc	atg	cac	431
Val	Ser	Gly	Ile	Ala	Ile	Phe	Ala	Thr	Tyr	Leu	Arg	Phe	Ala	Met	His	
		130					135					140				
atg	acc	gtg	ggc	ggc	gca	gtg	cca	tgg	ggt	gaa	gtg	gct	ggc	act	ctc	479
Met	Thr	Val	Gly	Gly	Ala	Val	Pro	Trp	Gly	Glu	Val	Ala	Gly	Thr	Leu	
	145					150					155					
ctc	ttg	gtg	gtt	ggt	ggc	gcg	ctc	ggc	atg	gag	atg	tat	gcc	cgc	tat	527
Leu	Leu	Val	Val	Gly	Gly	Ala	Leu	Gly	Met	Glu	Met	Tyr	Ala	Arg	Tyr	
	160				165				170					175		
gca	cac	aaa	gcc	atc	tgg	cat	gag	tcg	cct	ctg	ggc	tgg	ctg	ctg	cac	575
Ala	His	Lys	Ala	Ile	Trp	His	Glu	Ser	Pro	Leu	Gly	Trp	Leu	Leu	His	
				180					185				190			
aag	agc	cac	cac	aca	cct	cgc	act	gga	ccc	ttt	gaa	gcc	aac	gac	ttg	623
Lys	Ser	His	His	Thr	Pro	Arg	Thr	Gly	Pro	Phe	Glu	Ala	Asn	Asp	Leu	
			195					200					205			
ttt	gca	atc	atc	aat	gga	ctg	ccc	gcc	atg	ctc	ctg	tgt	acc	ttt	ggc	671
Phe	Ala	Ile	Ile	Asn	Gly	Leu	Pro	Ala	Met	Leu	Leu	Cys	Thr	Phe	Gly	
		210				215						220				
ttc	tgg	ctg	ccc	aac	gtc	ctg	ggg	gcg	gcc	tgc	ttt	gga	gcg	ggg	ctg	719

Phe Trp Leu Pro Asn Val Leu Gly Ala Ala Cys Phe Gly Ala Gly Leu  
 225 230 235

ggc atc acg cta tac ggc atg gca tat atg ttt gta cac gat ggc ctg 767  
 Gly Ile Thr Leu Tyr Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly Leu  
 240 245 250 255

gtg cac agg cgc ttt ccc acc ggg ccc atc gct ggc ctg ccc tac atg 815  
 Val His Arg Arg Phe Pro Thr Gly Pro Ile Ala Gly Leu Pro Tyr Met  
 260 265 270

aag cgc ctg aca gtg gcc cac cag cta cac cac agc ggc aag tac ggt 863  
 Lys Arg Leu Thr Val Ala His Gln Leu His His Ser Gly Lys Tyr Gly  
 275 280 285

ggc gcg ccc tgg ggt atg ttc ttg ggt cca cag gag ctg cag cac att 911  
 Gly Ala Pro Trp Gly Met Phe Leu Gly Pro Gln Glu Leu Gln His Ile  
 290 295 300

cca ggt gcg gcg gag gag gtg gag cga ctg gtc ctg gaa ctg gac tgg 959  
 Pro Gly Ala Ala Glu Glu Val Glu Arg Leu Val Leu Glu Leu Asp Trp  
 305 310 315

tcc aag cgg tag ggtgcggaac caggcacgct ggtttcacac ctcatgcctg 1011  
 Ser Lys Arg  
 320

tgataagggtg tggctagagc gatgcgtgtg agacgggtat gtcacggctg actggtctga 1071

tggccaatgg catcggccat gtctgggtcat cacgggctgg ttgcctgggt gaagggtgatg 1131

cacatcatca tgtgcggttg gaggggctgg cacagtgtgg gctgaactgg agcagttgtc 1191

caggctggcg ttgaatcagt gagggtttgt gattggcggt tgtgaagcaa tgactccgcc 1251

catattctat ttgtgggagc tgagatgatg gcatgcttgg gatgtgcatg gatcatggta 1311

gtgcagcaaa ctatattcac ctagggtgt tggtaggatc aggtgaggcc ttgcacattg 1371

catgatgtac tcgtcatggt gtgttggtga gaggatggat gtggatggat gtgtattctc 1431

agacgtagac cttgactgga ggcttgatcg agagagtggg ccgtattctt tgagagggga 1491

ggctcgtgcc agaaatggtg agtggatgac tgtgacgctg tacattgcag gcaggtgaga 1551

tgcactgtct cgattgtaaa atacattcag atgcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1608

<210> 78

<211> 322

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Haematococcus pluvialis

&lt;400&gt; 78

Thr Phe His Lys Pro Val Ser Gly Ala Ser Ala Leu Pro His Ile Gly  
 1 5 10 15

Pro Pro Pro His Leu His Arg Ser Phe Ala Ala Thr Thr Met Leu Ser  
 20 25 30

Lys Leu Gln Ser Ile Ser Val Lys Ala Arg Arg Val Glu Leu Ala Arg  
 35 40 45

Asp Ile Thr Arg Pro Lys Val Cys Leu His Ala Gln Arg Cys Ser Leu  
 50 55 60

Val Arg Leu Arg Val Ala Ala Pro Gln Thr Glu Glu Ala Leu Gly Thr  
 65 70 75 80

Val Gln Ala Ala Gly Ala Gly Asp Glu His Ser Ala Asp Val Ala Leu  
 85 90 95

Gln Gln Leu Asp Arg Ala Ile Ala Glu Arg Arg Ala Arg Arg Lys Arg  
 100 105 110

Glu Gln Leu Ser Tyr Gln Ala Ala Ala Ile Ala Ala Ser Ile Gly Val  
 115 120 125

Ser Gly Ile Ala Ile Phe Ala Thr Tyr Leu Arg Phe Ala Met His Met  
 130 135 140

Thr Val Gly Gly Ala Val Pro Trp Gly Glu Val Ala Gly Thr Leu Leu  
 145 150 155 160

Leu Val Val Gly Gly Ala Leu Gly Met Glu Met Tyr Ala Arg Tyr Ala  
 165 170 175

His Lys Ala Ile Trp His Glu Ser Pro Leu Gly Trp Leu Leu His Lys  
180 185 190

Ser His His Thr Pro Arg Thr Gly Pro Phe Glu Ala Asn Asp Leu Phe  
195 200 205

Ala Ile Ile Asn Gly Leu Pro Ala Met Leu Leu Cys Thr Phe Gly Phe  
210 215 220

Trp Leu Pro Asn Val Leu Gly Ala Ala Cys Phe Gly Ala Gly Leu Gly  
225 230 235 240

Ile Thr Leu Tyr Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly Leu Val  
245 250 255

His Arg Arg Phe Pro Thr Gly Pro Ile Ala Gly Leu Pro Tyr Met Lys  
260 265 270

Arg Leu Thr Val Ala His Gln Leu His His Ser Gly Lys Tyr Gly Gly  
275 280 285

Ala Pro Trp Gly Met Phe Leu Gly Pro Gln Glu Leu Gln His Ile Pro  
290 295 300

Gly Ala Ala Glu Glu Val Glu Arg Leu Val Leu Glu Leu Asp Trp Ser  
305 310 315 320

Lys Arg

<210> 79

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(33)

<223>

<400> 79

gcatgctcta gaccttataa agatattttg tga

33

<210> 80

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(33)

<223>

<400> 80

gcatgcatct agaaatggtt cagtgtcaac cat

33

<210> 81

<211> 805

<212> DNA

<213> Nostoc sp. Strain PCC7120

<220>

<221> variation

<222> (1)..(805)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 81

gcatgcatct agaaatggtt cagtgtcaac catcatctct gcattcagaa aaactggtgt	60
tattgtcatc gacaatcaga gatgataaaa atattaataa gggatatattt attgcctgct	120
ttatcttatt tttatgggca attagtttaa tcttattact ctcaatagat acatccataa	180
ttcataagag cttattaggt atagccatgc tttggcagac cttcttatat acaggtttat	240
ttattactgc tcatgatgcc atgcacggcg tagtttatcc caaaaatccc agaataaata	300
attttatagg taagctcact ctaatcttgt atggactact cccttataaa gatttattga	360
aaaaacattg gttacaccac ggacatcctg gtactgattt agaccctgat tattacaatg	420
gtcatcccca aaacttcttt ctttgggtatc tacattttat gaagtcttat tggcgatgga	480
cgcaaatttt cggattagtg atgatttttc atggacttaa aaatctggtg catataaccag	540
aaaataattt aattatattt tggatgatac cttctatttt aagttcagta caactatttt	600
attttggtag atttttgcct cataaaaagc tagaaggtgg ttatactaac cccattgtg	660
cgcgagtagt cccattacct cttttttggt cttttgttac ttgttatcac ttcggctacc	720
acaaggaaca tcacgaatac cctcaacttc cttggtggaa attacctgaa gtcacaaaa	780
tatctttata aggtctagag catgc	805

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; primer\_bind

&lt;222&gt; (1)..(24)

&lt;223&gt;

<400> 82  
aggtaccgca cggctctgcca atcc

24

<210> 83

<211> 26

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(26)

<223>

<400> 83  
aagcttgacc tgattatcag cacggt

26

<210> 84

<211> 4624

<212> DNA

<213> Erwinia uredovora

<220>

<221> CDS

<222> (128)..(1267)

<223>

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1288)..(2766)

<223>

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2802)..(3689)

<223>

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3631)..(4158)

<223>

<400> 84

gtcgactttc agcagcgcat ggcgaaaatc cagacagccc ttcgtttggc agggggcacc 60

atggccgctg ccgatatcat tgagcagggt atgtgcaccg gtcagcctgt cttaagtggg 120

agcggct atg caa ccg cat tat gat ctg att ctc gtg ggg gct gga ctc 169

Met Gln Pro His Tyr Asp Leu Ile Leu Val Gly Ala Gly Leu

1 5 10

gcg aat ggc ctt atc gcc ctg cgt ctt cag cag cag caa cct gat atg 217

Ala Asn Gly Leu Ile Ala Leu Arg Leu Gln Gln Gln Gln Pro Asp Met

15 20 25 30

cgt att ttg ctt atc gac gcc gca ccc cag gcg ggc ggg aat cat acg 265

Arg Ile Leu Leu Ile Asp Ala Ala Pro Gln Ala Gly Gly Asn His Thr

35 40 45

tgg tca ttt cac cac gat gat ttg act gag agc caa cat cgt tgg ata 313

Trp Ser Phe His His Asp Asp Leu Thr Glu Ser Gln His Arg Trp Ile

50 55 60

gct ccg ctg gtg gtt cat cac tgg ccc gac tat cag gta cgc ttt ccc 361

Ala Pro Leu Val Val His His Trp Pro Asp Tyr Gln Val Arg Phe Pro

65 70 75



aca cgc cgt cgt aag ctg aac agc ggc tac ttt tgt att act tct cag	409
Thr Arg Arg Arg Lys Leu Asn Ser Gly Tyr Phe Cys Ile Thr Ser Gln	
80 85 90	
cgt ttc gct gag gtt tta cag cga cag ttt ggc ccg cac ttg tgg atg	457
Arg Phe Ala Glu Val Leu Gln Arg Gln Phe Gly Pro His Leu Trp Met	
95 100 105 110	
gat acc gcg gtc gca gag gtt aat gcg gaa tct gtt cgg ttg aaa aag	505
Asp Thr Ala Val Ala Glu Val Asn Ala Glu Ser Val Arg Leu Lys Lys	
115 120 125	
ggc cag gtt atc ggt gcc cgc gcg gtg att gac ggg ccg ggt tat gcg	553
Gly Gln Val Ile Gly Ala Arg Ala Val Ile Asp Gly Arg Gly Tyr Ala	
130 135 140	
gca aat tca gca ctg agc gtg ggc ttc cag gcg ttt att ggc cag gaa	601
Ala Asn Ser Ala Leu Ser Val Gly Phe Gln Ala Phe Ile Gly Gln Glu	
145 150 155	
tgg cga ttg agc cac ccg cat ggt tta tcg tct ccc att atc atg gat	649
Trp Arg Leu Ser His Pro His Gly Leu Ser Ser Pro Ile Ile Met Asp	
160 165 170	
gcc acg gtc gat cag caa aat ggt tat cgc ttc gtg tac agc ctg ccg	697
Ala Thr Val Asp Gln Gln Asn Gly Tyr Arg Phe Val Tyr Ser Leu Pro	
175 180 185 190	
ctc tcg ccg acc aga ttg tta att gaa gac acg cac tat att gat aat	745
Leu Ser Pro Thr Arg Leu Leu Ile Glu Asp Thr His Tyr Ile Asp Asn	
195 200 205	
gcg aca tta gat cct gaa tgc gcg ccg caa aat att tgc gac tat gcc	793
Ala Thr Leu Asp Pro Glu Cys Ala Arg Gln Asn Ile Cys Asp Tyr Ala	
210 215 220	
gcg caa cag ggt tgg cag ctt cag aca ctg ctg cga gaa gaa cag ggc	841
Ala Gln Gln Gly Trp Gln Leu Gln Thr Leu Leu Arg Glu Glu Gln Gly	
225 230 235	
gcc tta ccc att act ctg tcg ggc aat gcc gac gca ttc tgg cag cag	889
Ala Leu Pro Ile Thr Leu Ser Gly Asn Ala Asp Ala Phe Trp Gln Gln	
240 245 250	
cgc ccc ctg gcc tgt agt gga tta cgt gcc ggt ctg ttc cat cct acc	937
Arg Pro Leu Ala Cys Ser Gly Leu Arg Ala Gly Leu Phe His Pro Thr	
255 260 265 270	
acc ggc tat tca ctg ccg ctg gcg gtt gcc gtg gcc gac cgc ctg agt	985
Thr Gly Tyr Ser Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Asp Arg Leu Ser	
275 280 285	

gca ctt gat gtc ttt acg tcg gcc tca att cac cat gcc att acg cat	1033
Ala Leu Asp Val Phe Thr Ser Ala Ser Ile His His Ala Ile Thr His	
290 295 300	
ttt gcc cgc gag cgc tgg cag cag cag ggc ttt ttc cgc atg ctg aat	1081
Phe Ala Arg Glu Arg Trp Gln Gln Gln Gly Phe Phe Arg Met Leu Asn	
305 310 315	
cgc atg ctg ttt tta gcc gga ccc gcc gat tca cgc tgg cgg gtt atg	1129
Arg Met Leu Phe Leu Ala Gly Pro Ala Asp Ser Arg Trp Arg Val Met	
320 325 330	
cag cgt ttt tat ggt tta cct gaa gat tta att gcc cgt ttt tat gcg	1177
Gln Arg Phe Tyr Gly Leu Pro Glu Asp Leu Ile Ala Arg Phe Tyr Ala	
335 340 345 350	
gga aaa ctc acg ctg acc gat cgg cta cgt att ctg agc ggc aag ccg	1225
Gly Lys Leu Thr Leu Thr Asp Arg Leu Arg Ile Leu Ser Gly Lys Pro	
355 360 365	
cct gtt ccg gta tta gca gca ttg caa gcc att atg acg act	1267
Pro Val Pro Val Leu Ala Ala Leu Gln Ala Ile Met Thr Thr	
370 375 380	
catcgtaaag gagcgactac atgaaaccaa ctacggtaat tgggtgcaggc ttcgggtggcc	1327
tggcactggc aattcgtcta caagctgcgg ggatccccgt cttactgctt gaacaacgtg	1387
ataaaccgcg cggtcgggct tatgtctacg aggatcaggg gtttaccttt gatgcaggcc	1447
cgacgggttat caccgatccc agtgccattg aagaactgtt tgcactggca ggaaaacagt	1507
taaaagagta tgtcgaactg ctgccgggta cgccgtttta ccgcctgtgt tgggagtcag	1567
ggaaggtcctt taattacgat aacgatcaaa cccggctcga agcgcagatt cagcagttta	1627
atccccgcga tgtcgaaggt tatcgctcagt ttctggacta ttcacgcgcg gtgttttaaag	1687
aaggctatct aaagctcggg actgtccctt ttttatcggt cagagacatg cttcgcgccg	1747
cacctcaact ggcgaaactg caggcatgga gaagcgttta cagtaagggt gccagttaca	1807
tcgaagatga acatctgcgc caggcggtttt ctttcactc gctgttggtg ggccggcaatc	1867
ccttcgccac ctcatccatt tatacgttga tacacgcgct ggagcgtgag tggggcgctct	1927
ggtttccgcg tggcggcacc ggccgattag ttcaggggat gataaagctg tttcaggatc	1987
tgggtggcga agtcgtgtta aacgccagag tcagccatat ggaaacgaca ggaaacaaga	2047
ttgaagccgt gcatttagag gacggtcgca ggttcctgac gcaagccgtc gcgtcaaagt	2107

cagatgtggg tcatacctat cgcgacctgt taagccagca ccctgccgcg gttaagcagt 2167  
ccaacaaact gcagactaag cgcattgagta actctctgtt tgtgctctat tttggtttga 2227  
atcaccatca tgatcagctc gcgcattcaca cggtttggtt cggcccgcggt taccgcgagc 2287  
tgattgacga aatttttaat catgatggcc tcgcagagga cttctcactt tatctgcacg 2347  
cgccctgtgt cacggattcg tcaactggcg ctgaagggtt cggcagttac tatgtgttgg 2407  
cgccgggtgcc gcatttaggc accgcgaacc tcgactggac gggtgagggg ccaaaactac 2467  
gcgaccgtat ttttgcgtag cttgagcagc attacatgcc tggcttacgg agtcagctgg 2527  
tcacgcaccg gatgtttacg ccgtttgatt ttcgcgacca gcttaatgcc tatcatggct 2587  
cagccttttc tgtggagccc gttcttacct agagcgcttg gtttcggccg cataaccgcg 2647  
ataaaacat tactaatctc tacctggtcg gcgcaggcac gcattccggc gcaggcattc 2707  
ctggcgatcat cggctcggca aaagcgacag caggtttgat gctggaggat ctgatttgaa 2767  
taatccgtcg ttactcaatc atgcggtcga aacgatggca gttggctcga aaagttttgc 2827  
gacagcctca aagttatttg atgcaaaaac ccggcgagc gtactgatgc tctacgcctg 2887  
gtgccgccat tgtgacgatg ttattgacga tcagacgctg ggctttcagg cccggcagcc 2947  
tgccttacia acgcccgaac aacgtctgat gcaacttgag atgaaaacgc gccaggccta 3007  
tgaggatcg cagatgcacg aaccggcggt tgcggctttt caggaagtgg ctatggctca 3067  
tgatatcgcc ccggcttacg cgtttgatca tctggaaggc ttcgccatgg atgtacgcga 3127  
agcgcaatac agccaactgg atgatacgct gcgctattgc tatcacgttg caggcgttgt 3187  
cggcttgatg atggcgcaaa tcatgggcgt gcgggataac gccacgctgg accgcgcctg 3247  
tgaccttggg ctggcatttc agttgaccaa tattgctcgc gatattgtgg acgatgcgca 3307  
tgccggccgc tggtatctgc cggcaagctg gctggagcat gaaggtctga acaaagagaa 3367  
ttatgcggca cctgaaaacc gtcaggcgct gagccgtatc gcccgctcgt tgggtgcagga 3427  
agcagaacct tactatttgt ctgccacagc cggcctggca gggttgcccc tgcgttccgc 3487  
ctgggcaatc gctacggcga agcaggttta ccggaaaata ggtgtcaaag ttgaacaggc 3547  
cggtcagcaa gcctgggatc agcggcagtc aacgaccag cccgaaaaat taacgctgct 3607  
gctggccgcc tctggtcagg cccttacttc ccggatgcgg gctcatcctc cccgccctgc 3667

gcatctctgg cagcgcccg ctagcgcca tgtctttccc ggagcgtcgc ctgaagtttt 3727  
gacaggggcg gcgcatagag gaagccaaaa gaaacacaac cttctttgcc cctgacggcg 3787  
tgatgcatac ggtgcgcat atacaaccgt ttgaggtagc ccttgcgtagg aatatacgcg 3847  
aatggccaac gttgatgcac cagcccgtagg tgcaccataa aatagagtaa tccatagcgc 3907  
gtcatacctg cgccaatcca ctggagcggc cacattcctg tactgcccag ataaatcagc 3967  
aggatcgata atgcagcaaa aaccacggca taaagatcgt taacttcaaa cgcaccttta 4027  
cgcggttcat gatgtgaaag atgccatccc caaccccgagc cgtgcatgat gtatttgtgt 4087  
gccagtgcag caatcacttc catgccaatc acggtaacga aaacgatcag ggcattccaa 4147  
atccacaaca taattttctc ggtagagacg tctggcagca ggcttaagga ttcaatttta 4207  
acagagatta gccgatctgg cggcggggaag ggaaaaaggc gcgccagaaa ggcgcgccag 4267  
ggatcagaag tcggctttca gaaccacacg gtagttggct ttacctgcac gaacatggtc 4327  
cagtgcacg ttgattttcg acatcgggaa gtactccact gtcggcgcaa tatctgtacg 4387  
gccagccagc ttcagcagt aacgcagctg cgcaggtgaa ccggttgaag aacccgtcac 4447  
ggcgcggtcg cctaaaatca ggctgaaagc cgggcacgtc aaacggcttc agtacggcac 4507  
ccacggtatg gaacttaccg cgaggcgcca gggccgcaaa gtagggttgc cagtcgagat 4567  
cgacggcgac cgtgctgata atcaggtcaa actggcccg caggcttttt aaagctt 4624

<210> 85

<211> 380

<212> PRT

<213> *Erwinia uredovora*

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1288) .. (2766)

<223>

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (2802)..(3689)

&lt;223&gt;

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (3631)..(4158)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 85

Met Gln Pro His Tyr Asp Leu Ile Leu Val Gly Ala Gly Leu Ala Asn  
1 5 10 15

Gly Leu Ile Ala Leu Arg Leu Gln Gln Gln Gln Pro Asp Met Arg Ile  
20 25 30

Leu Leu Ile Asp Ala Ala Pro Gln Ala Gly Gly Asn His Thr Trp Ser  
35 40 45

Phe His His Asp Asp Leu Thr Glu Ser Gln His Arg Trp Ile Ala Pro  
50 55 60

Leu Val Val His His Trp Pro Asp Tyr Gln Val Arg Phe Pro Thr Arg  
65 70 75 80

Arg Arg Lys Leu Asn Ser Gly Tyr Phe Cys Ile Thr Ser Gln Arg Phe  
85 90 95

Ala Glu Val Leu Gln Arg Gln Phe Gly Pro His Leu Trp Met Asp Thr  
100 105 110

Ala Val Ala Glu Val Asn Ala Glu Ser Val Arg Leu Lys Lys Gly Gln  
115 120 125

Val Ile Gly Ala Arg Ala Val Ile Asp Gly Arg Gly Tyr Ala Ala Asn  
130 135 140

Ser Ala Leu Ser Val Gly Phe Gln Ala Phe Ile Gly Gln Glu Trp Arg  
 145 150 155 160

Leu Ser His Pro His Gly Leu Ser Ser Pro Ile Ile Met Asp Ala Thr  
 165 170 175

Val Asp Gln Gln Asn Gly Tyr Arg Phe Val Tyr Ser Leu Pro Leu Ser  
 180 185 190

Pro Thr Arg Leu Leu Ile Glu Asp Thr His Tyr Ile Asp Asn Ala Thr  
 195 200 205

Leu Asp Pro Glu Cys Ala Arg Gln Asn Ile Cys Asp Tyr Ala Ala Gln  
 210 215 220

Gln Gly Trp Gln Leu Gln Thr Leu Leu Arg Glu Glu Gln Gly Ala Leu  
 225 230 235 240

Pro Ile Thr Leu Ser Gly Asn Ala Asp Ala Phe Trp Gln Gln Arg Pro  
 245 250 255

Leu Ala Cys Ser Gly Leu Arg Ala Gly Leu Phe His Pro Thr Thr Gly  
 260 265 270

Tyr Ser Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Asp Arg Leu Ser Ala Leu  
 275 280 285

Asp Val Phe Thr Ser Ala Ser Ile His His Ala Ile Thr His Phe Ala  
 290 295 300

Arg Glu Arg Trp Gln Gln Gln Gly Phe Phe Arg Met Leu Asn Arg Met  
 305 310 315 320

Leu Phe Leu Ala Gly Pro Ala Asp Ser Arg Trp Arg Val Met Gln Arg  
 325 330 335

Phe Tyr Gly Leu Pro Glu Asp Leu Ile Ala Arg Phe Tyr Ala Gly Lys  
 340 345 350

Leu Thr Leu Thr Asp Arg Leu Arg Ile Leu Ser Gly Lys Pro Pro Val  
355 360 365

Pro Val Leu Ala Ala Leu Gln Ala Ile Met Thr Thr  
370 375 380

<210> 86

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(32)

<223>

<400> 86  
tttttctoga gcgataaacg ctcacttggt ta

32

<210> 87

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(32)

<223>

<400> 87  
 tttttgtcga cacgttatgc tcacaacccc gg 32

<210> 88

<211> 679

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (87) .. (635)

<223>

<400> 88  
 ctcgagc gat aaacgctcac ttgggtaatc atttcactct tcaattatct ataatgatga 60  
 gtgatcagaa ttacatgtga gaaatt atg caa acg gaa cac gtc att tta ttg 113  
 Met Gln Thr Glu His Val Ile Leu Leu  
 1 5  
 aat gca cag gga gtt ccc acg ggt acg ctg gaa aag tat gcc gca cac 161  
 Asn Ala Gln Gly Val Pro Thr Gly Thr Leu Glu Lys Tyr Ala Ala His  
 10 15 20 25  
 acg gca gac acc cgc tta cat ctc gcg ttc tcc agt tgg ctg ttt aat 209  
 Thr Ala Asp Thr Arg Leu His Leu Ala Phe Ser Ser Trp Leu Phe Asn  
 30 35 40  
 gcc aaa gga caa tta tta gtt acc cgc cgc gca ctg agc aaa aaa gca 257  
 Ala Lys Gly Gln Leu Leu Val Thr Arg Arg Ala Leu Ser Lys Lys Ala  
 45 50 55  
 tgg cct ggc gtg tgg act aac tcg gtt tgt ggg cac cca caa ctg gga 305  
 Trp Pro Gly Val Trp Thr Asn Ser Val Cys Gly His Pro Gln Leu Gly  
 60 65 70  
 gaa agc aac gaa gac gca gtg atc cgc cgt tgc cgt tat gag ctt ggc 353  
 Glu Ser Asn Glu Asp Ala Val Ile Arg Arg Cys Arg Tyr Glu Leu Gly  
 75 80 85



gtg gaa att acg cct cct gaa tct atc tat cct gac ttt cgc tac cgc 401  
 Val Glu Ile Thr Pro Pro Glu Ser Ile Tyr Pro Asp Phe Arg Tyr Arg  
 90 95 100 105

gcc acc gat ccg agt ggc att gtg gaa aat gaa gtg tgt ccg gta ttt 449  
 Ala Thr Asp Pro Ser Gly Ile Val Glu Asn Glu Val Cys Pro Val Phe  
 110 115 120

gcc gca cgc acc act agt gcg tta cag atc aat gat gat gaa gtg atg 497  
 Ala Ala Arg Thr Thr Ser Ala Leu Gln Ile Asn Asp Asp Glu Val Met  
 125 130 135

gat tat caa tgg tgt gat tta gca gat gta tta cac ggt att gat gcc 545  
 Asp Tyr Gln Trp Cys Asp Leu Ala Asp Val Leu His Gly Ile Asp Ala  
 140 145 150

acg ccg tgg gcg ttc agt ccg tgg atg gtg atg cag gcg aca aat cgc 593  
 Thr Pro Trp Ala Phe Ser Pro Trp Met Val Met Gln Ala Thr Asn Arg  
 155 160 165

gaa gcc aga aaa cga tta tct gca ttt acc cag ctt aaa taa 635  
 Glu Ala Arg Lys Arg Leu Ser Ala Phe Thr Gln Leu Lys  
 170 175 180

aaaaaccccg acatttgccg gggttgtgag cataacgtgt cgac 679

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 182

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Escherichia coli

&lt;400&gt; 89

Met Gln Thr Glu His Val Ile Leu Leu Asn Ala Gln Gly Val Pro Thr  
 1 5 10 15

Gly Thr Leu Glu Lys Tyr Ala Ala His Thr Ala Asp Thr Arg Leu His  
 20 25 30

Leu Ala Phe Ser Ser Trp Leu Phe Asn Ala Lys Gly Gln Leu Leu Val  
 35 40 45

Thr Arg Arg Ala Leu Ser Lys Lys Ala Trp Pro Gly Val Trp Thr Asn  
50 55 60

Ser Val Cys Gly His Pro Gln Leu Gly Glu Ser Asn Glu Asp Ala Val  
65 70 75 80

Ile Arg Arg Cys Arg Tyr Glu Leu Gly Val Glu Ile Thr Pro Pro Glu  
85 90 95

Ser Ile Tyr Pro Asp Phe Arg Tyr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Gly Ile  
100 105 110

Val Glu Asn Glu Val Cys Pro Val Phe Ala Ala Arg Thr Thr Ser Ala  
115 120 125

Leu Gln Ile Asn Asp Asp Glu Val Met Asp Tyr Gln Trp Cys Asp Leu  
130 135 140

Ala Asp Val Leu His Gly Ile Asp Ala Thr Pro Trp Ala Phe Ser Pro  
145 150 155 160

Trp Met Val Met Gln Ala Thr Asn Arg Glu Ala Arg Lys Arg Leu Ser  
165 170 175

Ala Phe Thr Gln Leu Lys  
180

<210> 90

<211> 31

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(31)

<223>

<400> 90

tttttccatg gtgaaggagg aaatagcgaa a

31

<210> 91

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(32)

<223>

<400> 91

tttttaagct ttcacttttt tcttgtaacc aa

32

<210> 92

<211> 962

<212> DNA

<213> Archaeoglobus fulgidus

<220>

<221> CDS

<222> (3)..(956)

<223>

&lt;400&gt; 92

cc atg gtg aag gag gaa ata gcg aaa agg gcc gaa ata atc aac aaa 47  
 Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg Ala Glu Ile Ile Asn Lys  
 1 5 10 15

gcc att gaa gag ctt ctg ccc gaa agg gag ccg att gga ctc tac aaa 95  
 Ala Ile Glu Glu Leu Leu Pro Glu Arg Glu Pro Ile Gly Leu Tyr Lys  
 20 25 30

gcc gca agg cat ctg atc aaa gca ggt ggc aag agg cta agg cct gta 143  
 Ala Ala Arg His Leu Ile Lys Ala Gly Gly Lys Arg Leu Arg Pro Val  
 35 40 45

ata agc ctc tta gca gtc gaa gcc ctt ggg aaa gac tac aga aag att 191  
 Ile Ser Leu Leu Ala Val Glu Ala Leu Gly Lys Asp Tyr Arg Lys Ile  
 50 55 60

atc ccg gct gct gtc agc att gaa aca atc cac aac ttc acc ctc gtg 239  
 Ile Pro Ala Ala Val Ser Ile Glu Thr Ile His Asn Phe Thr Leu Val  
 65 70 75

cat gac gac ata atg gac agg gac gag atg agg agg gga gtt ccg acg 287  
 His Asp Asp Ile Met Asp Arg Asp Glu Met Arg Arg Gly Val Pro Thr  
 80 85 90 95

gta cac agg gtt tat ggg gaa gcg acg gcc att tta gca ggc gac aca 335  
 Val His Arg Val Tyr Gly Glu Ala Thr Ala Ile Leu Ala Gly Asp Thr  
 100 105 110

ctc ttt gct gaa gcc ttc aag ctg ctg aca aag tgc gat gtt gag agc 383  
 Leu Phe Ala Glu Ala Phe Lys Leu Leu Thr Lys Cys Asp Val Glu Ser  
 115 120 125

gag gga atc aga aaa gct aca gaa atg ctt tcg gac gtt tgc ata aaa 431  
 Glu Gly Ile Arg Lys Ala Thr Glu Met Leu Ser Asp Val Cys Ile Lys  
 130 135 140

ata tgc gag ggg cag tac tac gac atg agc ttt gag aaa aag gag agc 479  
 Ile Cys Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Met Ser Phe Glu Lys Lys Glu Ser  
 145 150 155

gtt tcc gag gag gag tat ctc agg atg gtc gag ctg aag acc gga gtg 527  
 Val Ser Glu Glu Glu Tyr Leu Arg Met Val Glu Leu Lys Thr Gly Val  
 160 165 170 175

ctg att gca gct tct gca gca tta cct gcg gtg ctt ttt ggg gag agc 575  
 Leu Ile Ala Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ala Val Leu Phe Gly Glu Ser  
 180 185 190

gag gaa att gta aag gcg ctg tgg gac tac gga gtt ctt agc ggt att 623  
 Glu Glu Ile Val Lys Ala Leu Trp Asp Tyr Gly Val Leu Ser Gly Ile  
 195 200 205

ggc ttc cag atc cag gac gac ctg ctt gac ctg act gag gag acc gga 671  
 Gly Phe Gln Ile Gln Asp Asp Leu Leu Asp Leu Thr Glu Glu Thr Gly  
 210 215 220

aag gac tgg gga agc gac ctg ctt aaa ggg aag aaa acc ctg att gtc 719  
 Lys Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly Lys Lys Thr Leu Ile Val  
 225 230 235

ata aag gcg ttc gaa aag gga gtg aag cta aag acg ttt gga aag gaa 767  
 Ile Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu Lys Thr Phe Gly Lys Glu  
 240 245 250 255

aag gcg gac gtc tct gag att aga gat gat atc gaa aag tta aga gag 815  
 Lys Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp Ile Glu Lys Leu Arg Glu  
 260 265 270

tgt ggt gcg att gat tac gct gcc agc atg gca aga aag atg gct gaa 863  
 Cys Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met Ala Arg Lys Met Ala Glu  
 275 280 285

gag gcg aaa aga aag ctc gaa gtt ctg cct gaa agc aaa gcc aag gaa 911  
 Glu Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro Glu Ser Lys Ala Lys Glu  
 290 295 300

aca ctg ctg gaa ctt acc gac ttc ttg gtt aca aga aaa aag tga 956  
 Thr Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val Thr Arg Lys Lys  
 305 310 315

aagctt 962

<210> 93

<211> 317

<212> PRT

<213> Archaeoglobus fulgidus

<400> 93

Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg Ala Glu Ile Ile Asn Lys Ala  
 1 5 10 15

Ile Glu Glu Leu Leu Pro Glu Arg Glu Pro Ile Gly Leu Tyr Lys Ala  
 20 25 30

Ala Arg His Leu Ile Lys Ala Gly Gly Lys Arg Leu Arg Pro Val Ile  
35 40 45

Ser Leu Leu Ala Val Glu Ala Leu Gly Lys Asp Tyr Arg Lys Ile Ile  
50 55 60

Pro Ala Ala Val Ser Ile Glu Thr Ile His Asn Phe Thr Leu Val His  
65 70 75 80

Asp Asp Ile Met Asp Arg Asp Glu Met Arg Arg Gly Val Pro Thr Val  
85 90 95

His Arg Val Tyr Gly Glu Ala Thr Ala Ile Leu Ala Gly Asp Thr Leu  
100 105 110

Phe Ala Glu Ala Phe Lys Leu Leu Thr Lys Cys Asp Val Glu Ser Glu  
115 120 125

Gly Ile Arg Lys Ala Thr Glu Met Leu Ser Asp Val Cys Ile Lys Ile  
130 135 140

Cys Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Met Ser Phe Glu Lys Lys Glu Ser Val  
145 150 155 160

Ser Glu Glu Glu Tyr Leu Arg Met Val Glu Leu Lys Thr Gly Val Leu  
165 170 175

Ile Ala Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ala Val Leu Phe Gly Glu Ser Glu  
180 185 190

Glu Ile Val Lys Ala Leu Trp Asp Tyr Gly Val Leu Ser Gly Ile Gly  
195 200 205

Phe Gln Ile Gln Asp Asp Leu Leu Asp Leu Thr Glu Glu Thr Gly Lys  
210 215 220

Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly Lys Lys Thr Leu Ile Val Ile  
225 230 235 240

Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu Lys Thr Phe Gly Lys Glu Lys  
 245 250 255

Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp Ile Glu Lys Leu Arg Glu Cys  
 260 265 270

Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met Ala Arg Lys Met Ala Glu Glu  
 275 280 285

Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro Glu Ser Lys Ala Lys Glu Thr  
 290 295 300

Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val Thr Arg Lys Lys  
 305 310 315

<210> 94

<211> 1293

<212> DNA

<213> Archaeoglobus fulgidus

<220>

<221> CDS

<222> (206)..(1159)

<223>

<400> 94

taaaacgacg gccagtgagc gcgcgtaata cgactcacta tagggcgaat tgggtaccgg 60

gccccccctc gacgccgtcg ttcaatgaga atggataaga ggctcgtggg attgacgtga 120

gggggacagg atggctatat ttctgggagc gaactccggg cgaggatcta gttgtaggga 180

gggattcatg acaccacaaa cagcc atg gtg aag gag gaa ata gcg aaa agg 232  
 Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg

1

5

gcc gaa ata atc aac aaa gcc att gaa gag ctt ctg ccc gaa agg gag 280





Leu Thr Glu Glu Thr Gly Lys Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly  
 220 225 230  
  
 aag aaa acc ctg att gtc ata aag gcg ttc gaa aag gga gtg aag cta 952  
 Lys Lys Thr Leu Ile Val Ile Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu  
 235 240 245  
  
 aag acg ttt gga aag gaa aag gcg gac gtc tct gag att aga gat gat 1000  
 Lys Thr Phe Gly Lys Glu Lys Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp  
 250 255 260 265  
  
 atc gaa aag tta aga gag tgt ggt gcg att gat tac gct gcc agc atg 1048  
 Ile Glu Lys Leu Arg Glu Cys Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met  
 270 275 280  
  
 gca aga aag atg gct gaa gag gcg aaa aga aag ctc gaa gtt ctg cct 1096  
 Ala Arg Lys Met Ala Glu Glu Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro  
 285 290 295  
  
 gaa agc aaa gcc aag gaa aca ctg ctg gaa ctt acc gac ttc ttg gtt 1144  
 Glu Ser Lys Ala Lys Glu Thr Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val  
 300 305 310  
  
 aca aga aaa aag tga aagcttcaat tgcattgctct agatgatcaa agaattcctg 1199  
 Thr Arg Lys Lys  
 315  
  
 gcctagtcta taggagggttt tgaaaagaaa ggagcaataa tcattttctt gttctatcaa 1259  
  
 gaggggtgcta ttgctccttt ctttttttct cgag 1293

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 317

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Archaeoglobus fulgidus

&lt;400&gt; 95

Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg Ala Glu Ile Ile Asn Lys Ala  
 1 5 10 15

Ile Glu Glu Leu Leu Pro Glu Arg Glu Pro Ile Gly Leu Tyr Lys Ala  
 20 25 30

Ala Arg His Leu Ile Lys Ala Gly Gly Lys Arg Leu Arg Pro Val Ile  
 35 40 45

Ser Leu Leu Ala Val Glu Ala Leu Gly Lys Asp Tyr Arg Lys Ile Ile  
 50 55 60

Pro Ala Ala Val Ser Ile Glu Thr Ile His Asn Phe Thr Leu Val His  
 65 70 75 80

Asp Asp Ile Met Asp Arg Asp Glu Met Arg Arg Gly Val Pro Thr Val  
 85 90 95

His Arg Val Tyr Gly Glu Ala Thr Ala Ile Leu Ala Gly Asp Thr Leu  
 100 105 110

Phe Ala Glu Ala Phe Lys Leu Leu Thr Lys Cys Asp Val Glu Ser Glu  
 115 120 125

Gly Ile Arg Lys Ala Thr Glu Met Leu Ser Asp Val Cys Ile Lys Ile  
 130 135 140

Cys Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Met Ser Phe Glu Lys Lys Glu Ser Val  
 145 150 155 160

Ser Glu Glu Glu Tyr Leu Arg Met Val Glu Leu Lys Thr Gly Val Leu  
 165 170 175

Ile Ala Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ala Val Leu Phe Gly Glu Ser Glu  
 180 185 190

Glu Ile Val Lys Ala Leu Trp Asp Tyr Gly Val Leu Ser Gly Ile Gly  
 195 200 205

Phe Gln Ile Gln Asp Asp Leu Leu Asp Leu Thr Glu Glu Thr Gly Lys  
 210 215 220

Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly Lys Lys Thr Leu Ile Val Ile  
 225 230 235 240

Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu Lys Thr Phe Gly Lys Glu Lys  
245 250 255

Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp Ile Glu Lys Leu Arg Glu Cys  
260 265 270

Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met Ala Arg Lys Met Ala Glu Glu  
275 280 285

Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro Glu Ser Lys Ala Lys Glu Thr  
290 295 300

Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val Thr Arg Lys Lys  
305 310 315

<210> 96

<211> 35

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1)..(35)

<223>

<400> 96

gagctcttca ttatttcgat ttgatttcg tgacc

35

<210> 97

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (38)

<223>

<400> 97

aagcttgggt gatcagaaga agaagaagaa gatgaact

38

<210> 98

<211> 647

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> Promotor

<222> (1) .. (647)

<223>

<400> 98

gagctcttca ttatttcgat ttgatttcg tgaccagcga acgcagaata ccttggtgtg 60

taataacttta cccgtgtaaa tcaaaaacaa aaaggctttt gagctttttg tagttgaatt 120

tctctggctg atcttttctg tacagattca tatatctgca gagacgatat cattgattat 180

ttgagcttct tttgaactat ttcgtgtaat ttgggatgag agctctatgt atgtgtgtaa 240

actttgaaga caacaagaaa ggtaacaagt gagggaggga tgactccatg tcaaaataga 300

tgtcataaga ggcccatcaa taagtgcttg agcccatag ctagcccatg aactaccaga 360

ttgtgagatg gatgtgtgaa cagttttttt ttgatgtag gactgaaatg tgaacaacag 420

gcgcatgaaa ggctaaatta ggacaatgat aagcagaaat aacttatcct ctctaact 480

tggcctcaca ttgcccttca cacaatccac acacatccaa tcacaacctc atcatatatc 540

tcccgcataat cttttttttct ttgatctttt tttttttgct tattattttt ttgactttga 600

tctcccatca gttcatcttc ttctttcttct totgatcaac caagctt 647

<210> 99

<211> 28

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer\_bind

<222> (1) .. (28)

<223>

<400> 99

gagctcactc actgatttcc attgcttg 28

<210> 100

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (37)

<223>

<400> 100  
gcgcatgcat ctagaaatga tccagttaga acaacca

37

<210> 101

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (37)

<223>

<400> 101  
gcgcatgctc tagactatct tgctttgtaa atttctg

37

<210> 102

<211> 792

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> CDS

<222> (5) .. (775)

<223>

<400> 102  
gcgc atg cat cta gaa atg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa  
Met His Leu Glu Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln  
1 5 10 15

49

gca aaa ctg act cca gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt	97
Ala Lys Leu Thr Pro Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu	
20 25 30	
ttc att gct att gtc att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta	145
Phe Ile Ala Ile Val Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu	
35 40 45	
tta ctt tcc ctt gac atc tca aag cta aaa ttt tgg atg tta ttg cct	193
Leu Leu Ser Leu Asp Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro	
50 55 60	
gtt ata cta tgg caa aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct	241
Val Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser	
65 70 75	
cat gat gcc atg cat ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat	289
His Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn	
80 85 90 95	
cat ttg att gga aca ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat	337
His Leu Ile Gly Thr Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr	
100 105 110	
caa aaa cta ttg aaa aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc	385
Gln Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser	
115 120 125	
tca ata gac ccg gat ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct	433
Ser Ile Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala	
130 135 140	
tgg tat ttt cat ttt atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att	481
Trp Tyr Phe His Phe Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile	
145 150 155	
gcg ttg act att att tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca	529
Ala Leu Thr Ile Ile Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro	
160 165 170 175	
agt gat aat cta act tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca	577
Ser Asp Asn Leu Thr Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser	
180 185 190	
tta caa tta ttc tat ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata	625
Leu Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile	
195 200 205	
ggg ggt tat gtt cag cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att	673
Gly Gly Tyr Val Gln Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile	
210 215 220	

tgg tgg tca ttt atc acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat 721  
 Trp Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His  
 225 230 235

cac gaa tat cct cat att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa 769  
 His Glu Tyr Pro His Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys  
 240 245 250 255

gca aaa tagtctagag catgcg 792  
 Ala Lys

<210> 103

<211> 257

<212> PRT

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<400> 103

Met His Leu Glu Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala  
 1 5 10 15

Lys Leu Thr Pro Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe  
 20 25 30

Ile Ala Ile Val Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu  
 35 40 45

Leu Ser Leu Asp Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val  
 50 55 60

Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His  
 65 70 75 80

Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His  
 85 90 95

Leu Ile Gly Thr Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln  
 100 105 110



Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser  
 115 120 125

Ile Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp  
 130 135 140

Tyr Phe His Phe Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala  
 145 150 155 160

Leu Thr Ile Ile Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser  
 165 170 175

Asp Asn Leu Thr Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu  
 180 185 190

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly  
 195 200 205

Gly Tyr Val Gln Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp  
 210 215 220

Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His  
 225 230 235 240

Glu Tyr Pro His Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala  
 245 250 255

Lys

<210> 104

<211> 26

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (26)

<223>

<400> 104

gtcgaccctg ctttaatgag atatgc

26

<210> 105

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (27)

<223>

<400> 105

ctcgagcttg gacaatcagt aaattga

27

<210> 106

<211> 210

<212> DNA

<213> Agrobacterium tumefaciens

<220>

<221> Terminator

<222> (1) .. (210)

<223>

<400> 106

```
gtcgaccctg ctttaatgag atatgcgaga cgcctatgat cgcgatgatat ttgctttcaa      60
ttctgttggtg cacgttgtaa aaaacctgag catgtgtagc tcagatcctt accgccgggtt      120
tcggttcatt ctaatgaata taccaccgt tactatcgta ttttatgaa taatattctc      180
cgttcaattt actgattgtc caagctcgag                                         210
```

<210> 107

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (37)

<223>

<400> 107

```
cccgggaatt cttcattatt tcgattttga ttcctgtg                                         37
```

<210> 108

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (38)

<223>

<400> 108

aagcttgggt gatcagaaga agaagaagaa gatgaact

38

<210> 109

<211> 652

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> Promotor

<222> (1) .. (652)

<223>

<400> 109

cccgggaatt cttcattatt tcgattttga tttcgtgacc agcgaacgca gaataccttg 60

ttgtgtaata ctttaccctgt gtaaatacaa aacaaaaagg cttttgagct ttttgtagtt 120

gaattttctct ggctgatctt ttctgtacag attcatatat ctgcagagac gatatcattg 180

attatttgag cttctttttga actatttcgt gtaatttggg atgagagctc tatgtatgtg 240

tgtaaacttt gaagacaaca agaaaggtaa caagtgaggg agggatgact ccatgtcaaa 300

atagatgtca taagaggccc atcaataagt gcttgagccc attagctagc ccagtaacta 360

ccagattgtg agatggatgt gtgaacagtt ttttttttga tgtaggactg aaatgtgaac 420

aacaggcgca tgaaaggcta aattaggaca atgataagca gaaataactt atcctctcta 480

acacttggcc tcacattgcc cttcacacaa tccacacaca tccaatcaca acctcatcat 540

atatctcccc ctaatctttt tttctttgat cttttttttt ttgcttatta tttttttgac 600

tttgatctcc catcagttca tcttcttctt cttcttctga tcaaccaagc tt 652

<210> 110

<211> 29

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (29)

<223>

<400> 110

gagctctagc gcaatcttat gtggtacaa 29

<210> 111

<211> 29

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (29)

<223>

<400> 111

aagcttttct tgaaagtaaa gattgagtc 29

<210> 112

<211> 1773

<212> DNA

<213> *Petunia hybrida*

<220>

<221> Promotor

<222> (1) .. (1773)

<223>

<400> 112

gagctctagc gcaatcttat gtggtacaaa tcttgattag tcgggaaaaa atgatgtggc	60
cctacaaatg gttggaggat gggagatttg gctctatcta gagttatgtg gttgttgaag	120
catttggtta ctctctgctg tggtagttgg catatccaca ttgtctcctt ccacttttat	180
gacaattacg tgaaagttat gggttgtttt gtctattttt gtcgaggcct ttcttttcct	240
tccaggttgt tgaagatggc ccaattcgat tagaataatg ttttgagctt tagcatattc	300
tctctcgttt acacgattat agtaataatg atataggatg acagaagttg acacataaat	360
tttttattct ctccatttac tttaatccaa atctcaccta ccctaaactt ctttaatatg	420
tattcaatag tctatccgag taaattgtaa atttaacaac cattgataat attgacacct	480
actaacatat actagtaaag agaattattaa catggcacat ataatttgat gcaaaatgag	540
tatgatgaaa tttaaaccca aaatctcttg attttgacag tgtcaccttg acttgttaac	600
taataagtca tgtttttagtg gcagaaagac aaactcatcc accaactgta tagcaataaa	660
aaatagaaga atcttcctga ggcaaagttt tggaaaaatt aagagtggct gagatttaat	720
ttcaacagga attagttcca cttaactttt aggttacgat acagtgctaa ttaaataact	780
taattgtatt agatatttct tgcacctaaa aaatttaaaa actgaaaaaa ggtagcaatc	840
aaaataaaca aaaggacaaa ataagtgaag ggtacagcca ccaaccctgg cggctcactg	900
tttggtgggtt aaaacgtaga cttacacctt ccaaaatcta caactaaaat gaggcaataa	960

tactttgccc aaaattacca agaaaagaaa aagaaaggaa tcccttaata ttactctcct 1020  
 ccatttcaca ataaatatcc tagtttgact taaattagag tttaaaaaat gaaagacgac 1080  
 ttttaaaact tgtaatctaa aataaatcat agttaaatgt gtggctataa atcattgtat 1140  
 taacggtaaa gtggttaagt taaaagttaa ttgttttcaa atataaaatt gtactatcat 1200  
 tctttttgga atggactaat aagaaaacta tgacatccat tatggagcgg agggagtatc 1260  
 tccttttaac aataaccttt gtcccttcaa ttcaattatc agtatgcaaa cattaanaat 1320  
 tattattgat gttaagtacc acatcatcct taatgataga atcatcgtag aacgcttttc 1380  
 caggcacaca ttcaaactag ttagaccagt accacacatc gaatattcca gacttctttg 1440  
 tttgaatagt cgactacatt ggataatgga acttctcgaa ttaacttoga attagtcgag 1500  
 cccaaaataa tatatacgtc ggggtggaaa ctataaaatg ttgacaaaa atgtcaaatt 1560  
 aatatatcaa tctgcaaca ccttttcacc ttgagaacac agctgaaatt ttttacaag 1620  
 gtagttggtg aagctagtca gcgaatccca ttaccttcca ctctaccta ccccttcac 1680  
 caacaacaaa tttctgtaat ttaaaaacta gccaaaaaag aactctcttt tacaagagc 1740  
 caagactca atctttactt tcaagaaaag ctt 1773

<210> 113

<211> 39

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (39)

<223>

<400> 113

gcgcagcat ctagaaatga atttttgtga taaaccagt

39

<210> 114

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(37)

<223>

<400> 114

gcgcatgctc tagattacga attgggttact gaattgt

37

<210> 115

<211> 819

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> misc\_feature

<222> (5)..(802)

<223>

<400> 115

gcgcatgcat ctagaaatga atttttgtga taaaccagtt agctattatg ttgcaataga 60

gcaattaagt gctaaagaag atactgtttg ggggctggtg attgtcatag taattattag 120

tctttgggta gctagtttgg cttttttact agctattaat tatgccaaag tcccaatttg 180



gttgatacct attgcaatag tttggcaaat gttcctttat acagggctat ttattactgc 240  
acatgatgct atgcatgggt cagtttatcg taaaaatccc aaaattaata attttatcgg 300  
ttcactagct gtagcgcttt acgctgtgtt tccatatcaa cagatgttaa agaattcattg 360  
cttacatcat cgtcatcctg cttagcgaagt tgaccagat tttcatgatg gtaagagaac 420  
aaacgctatt ttctgggtatc tccatttcat gatagaatac tccagttggc aacagttaat 480  
agtactaact atcctattta atttagctaa atacgttttg cacatccatc aaataaatct 540  
catcttattt tggagtattc ctccaatttt aagttccatt caactgtttt atttcggaac 600  
atttttgcct catcgagaac ccaagaaagg atatgtttat cccattgca gccaaacaat 660  
aaaattgcc aactttttgt catttatcgc ttgctaccac tttggttatc atgaagaaca 720  
tcatgagtat cccatgtac cttggtggca acttccatct gtatataagc agagagtatt 780  
caacaattca gtaaccaatt cgtaatctag agcatgcgc 819

<210> 116

<211> 24

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (24)

<223>

<400> 116

gaattcctgc aatagaatgt tgag

24

<210> 117

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (25)

<223>

<400> 117

ctcgagctta cgagcatttt ctaag

25

<210> 118

<211> 307

<212> DNA

<213> Vicia faba

<220>

<221> Terminator

<222> (1) .. (307)

<223>

<400> 118

gaattcctgc aatagaatgt tgaggtagacc actttctgta ataaaataat tataaaataa 60

atttagaatt gctgtagtca agaacatcag ttctaaaata ttaataaaagt tatggccttt 120

tgacatatgt gtttcgataa aaaaatcaaa ataaattgag atttattcga aatacaatga 180

aagtttgcag atatgagata tgtttctaca aaataataac ttaaaaactca actatatgct 240

aatgtttttc ttggtgtggt tcatagaaaa ttgtatccgt ttcttagaaa atgctcgtaa 300

gctcgag

307

<210> 119

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (25)

<223>

<400> 119

gaattcccaa taataatcta cagcc

25

<210> 120

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (25)

<223>

<400> 120

aagcttccat ggcggccgga atttc

25

<210> 121

&lt;211&gt; 1020

&lt;212&gt; DNA

<213> *Lycopersicon esculentum*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (1)..(1020)

&lt;223&gt; Nukleinsäure codierend für ein b-Hydroxylase

&lt;400&gt; 121

```

aagcttccat ggcggcggga atttcagcct ccgctagttc ccgaaccatt cgcctccgtc      60
ataacccggtt tctcagtcca aaatccgcct caaccgcccc gccggttctg ttcttctctc      120
cgttaactcg caattttggc gcaattttgc tgtctagaag aaagccgaga ttggcggttt      180
gttttgtgct ggagaatgag aaattgaata gtactatcga aagtgagagt gaagtaatag      240
aggatcggat acaagtagag attaatgagg agaagagttt agctgccagt tggctggcgg      300
agaaattggc gaggaagaaa tcggagaggt ttacttatct tgtggcagct gtgatgtcta      360
gtttggggat tacttctatg gcgattttgg cggtttatta cagattttca tggcaaatgg      420
aggggtggaga agtgcctttt tctgaaatgt tagctacatt cactctctcg tttggcgctg      480
ccgtaggaat ggagtactgg gcgagatggg ctcatagagc actatggcat gcttctttat      540
ggcacatgca cgagtcgcac catagaccaa gagaaggacc ttttgagatg aacgacgttt      600
tcgccataac aaatgctgtt ccagctatag gtcttctttc ctacggtttc ttccataaag      660
ggatcgtccc tggcctctgt ttcggcgctg gattggggat cacagtattt gggatggctt      720
acatgttcgt tcacgatgga ctggttcata agagatttcc cgtagggcct attgccaacg      780
tgccttactt tcggagggta gctgcagcac atcagcttca tctctcggac aaatttgatg      840
gtgtcccata tggcttggtt ctaggacctt aggaattgga agaagtagga ggacttgaag      900
agttagaaaa ggaagtcaac cgaaggatta aaatttctaa gggattatta tgatcaaaag      960
atacgtctga taataataaa atgcgattgt atttaggctg tagattatta ttgggaattc     1020

```

<210> 122

<211> 24

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (24)

<223>

<400> 122

gagctctagc gcaatcttat gtgg

24

<210> 123

<211> 22

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (22)

<223>

<400> 123

ccatgggttct cacttctgta tg

22

<210> 124

<211> 1802

<212> DNA

<213> *Petunia hybrida*

<220>

<221> Promotor

<222> (1) .. (1802)

<223>

<400> 124

gagctctagc gcaatcttat gtggtacaaa tcttgattag tcgggaaaaa atgatgtggc	60
cctacaaatg gttggaggat gggagatttg gctctatcta gagttatgtg gttgttgaag	120
catttggtta ctctctgctg tggtagttgg catatccaca ttgtctcctt ccacttttat	180
gacaattacg tgaaagttat gggttgtttt gtctattttt gtcgaggcct ttcttttcct	240
tccaggttgt tgaagatggc ccaattcgat tagaataatg ttttgagctt tagcatattc	300
tctctcgttt acacgattat agtaataatg atataggatg acagaagttg acacataaat	360
tttttattct ctccatttac tttaatccaa atctcaccta ccctaaactt ctttaatatg	420
tattcaatag tctatccgag taaattgtaa atttaacaac cattgataat attgacacct	480
actaacatat actagttaaag agaattattaa catggcacat ataatttgat gcaaaatgag	540
tatgatgaaa tttaaaccce aaatctcttg attttgacag tgtcaccttg acttgtaac	600
taataagtca tgtttttagtg gcagaaagac aaactcatcc accaactgta tagcaataaa	660
aaatagaaga atcttcctga ggcaaagttt tggaaaaatt aagagtggct gagatttaat	720
ttcaacagga attagttcca ctttaactttt aggttacgat acagtgctaa ttaaataact	780
taattgtatt agatatttct tgcacctaaa aaatttaaaa actgaaaaaa ggtagcaatc	840
aaaataaaca aaaggacaaa ataagtgaag ggtacagcca ccaaccctgg cggctcactg	900
tttgttgggtt aaaacgtaga cttacaccta ccaaaatcta caactaaaat gaggcaataa	960
tactttgccc aaaattacca agaaaagaaa aagaaaggaa tcccttaata ttactctcct	1020

ccatttcaca ataaatatcc tagtttgact taaattagag tttaaaaaat gaaagacgac 1080  
ttttaaaact tgtaatctaa aataaatcat agttaaatgt gtggctataa atcattgtat 1140  
taacggtaaa gtggtagtt taaaagttaa ttgttttcaa atataaaatt gtactatcat 1200  
tctttttgga atggactaat aagaaaacta tgacatccat tatggagcgg agggagtatc 1260  
tccttttaac aataaccttt gtcccttcaa ttcaattatc agtatgcaaa cattaanaat 1320  
tattattgat gttaagtacc acatcatcct taatgataga atcatcgtag aacgcttttc 1380  
caggcacaca ttcaaactag ttagaccagt accacacatc gaatattcca gacttctttg 1440  
tttgaatagt cgactacatt ggataatgga acttctcgaa ttaacttcga attagtcgag 1500  
cccaaaataa tatatacgtc ggggtgaaaa ctataaatg ttgacaaaa atgtcaaatt 1560  
aatatatcaa tctgcaacaa ccttttcacc ttgagaacac agctgaaatt tttacaaaag 1620  
gtagttggtg aagctagtca gcgaatccca ttaccttcca ctctaccta ccccttcac 1680  
caacaacaaa tttctgtaat ttaaaaacta gccaaaaaag aactctcttt tacaagagc 1740  
caaagactca atctttactt tcaagaaaag ctttgcaatt catacagaag tgagaacat 1800  
gg 1802

<210> 125

<211> 1033

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> Promotor

<222> (1)..(1033)

<223> P76

<400> 125

aggtgcatga ccaagtaaca atttgattcc ttccagcat aacgtcatgt tgggtgcaaa 60

aagaaggcaa agtagagcaa gcaagcaagc aaagcatttt tcttatttta tatttttggtg 120  
cggattccac caccacttg aaaaattgac atgtcacaat gatttcgtat cctagtcttt 180  
tattatttaa cactctcaca atcccattac tctacacctc tttcattaag tcaacacacg 240  
gttttcaaaa atccactacc ctcccaccac ctagaatctt ttgttaccta ccaacaccct 300  
cctttgttct ctttatatat tggccaact aaatcaataa gggaaagcat ctttttggtt 360  
ggaggaattg ctttcattct cactctttgt gtgttgatca atggactagc taataacaag 420  
ttcctcctct atatatttca aaagaatgga acagaaacat aaacgaaaga cagagtacct 480  
gatgttgatg attcattgtc tgtctggagc tcccaaagc cttttatgct tacatattca 540  
taaccaacaa cggctattaa ttataaacca aaaacacgaa ataagtttgt agcaaagtga 600  
aattaggaat cttggagatg gatccattag tagtaggata ataggatatg atggaatttg 660  
gttggggaac agtgataact tacgcttgct tccggcgccg ggaaagtgg aaaacctaça 720  
aagtacagaa atggatctgg gccttgaagt gggcttttta ttaaagaaaa aaatacatct 780  
ccgttatcaa tcaccatctt cttctatcta caaattaaag aaggtaacaa cagaacgtgg 840  
tggatcatgt ggtaggcatt taattatttg ctttgtttcg ccgttttggt aacacacaga 900  
cacagttccg gtaagagctt ttgcagccac tctttatagt tatttagaat tggcgatcga 960  
atcaatctca ctccctccct cccttaagtc ttgttgaatc tgctgaattg tttataaag 1020  
agttactttg gca 1033

<210> 126

<211> 19

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (19)



<223>

<400> 126

tgccaaagta actctttat

19

<210> 127

<211> 19

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(19)

<223>

<400> 127

aggtgcatga ccaagtaac

19

<210> 128

<211> 996

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(996)

<223>

<400> 128  
ggcacgagcc tctctctatt ttacacttc aatggcggca gcaattgctg tcccttgtag 60  
ctcaagacca ttggcttag gtcgaatgcg gttacttggc cataaaccca caaccataac 120  
ttgtcacttc cccttttctt ttctatcaa atcatttacc ccaattgtta ggggcagaag 180  
atgtactgtt tgttttgttg ccggtggcga cagtaatagt aacagtaata ataatagtga 240  
cagtaatagt aataatccgg gtctggattt aaaccggcg gttatgaacc gtaaccgttt 300  
ggttgaagaa aaaatggaga ggaaaaaatc ggaacgattt acttatcttg ttgcagctat 360  
tatgtctact ttggaatta cttcaatggc gggtatggcg gtttattacc ggttttcatg 420  
gcaaatggag ggtggagaaa ttccttatgt ggagatgttt ggtacatttg ctctctccgt 480  
tggtgctgcg gtaggaatgg agtattgggc aagatgggct catgaggcac tatggcatgc 540  
ttctttgtgg cacatgcatg agtcacacca taagccacga gaaggccgt ttgagcttaa 600  
tgatgtgttt gctataacaa atgcgggtccc ggccattgcy ttgcttagtt atgggttttt 660  
ccacaaaggc ataattccgg gtctttgttt tggggcggga ctgggaatta cgggtgtttg 720  
aatggcgat atgttcgtcc acgacgggct agttcacaga agattccaag tgggtccgat 780  
tgcaaatgtt ccctatcttc gaagggttgc agcggtcat cagctgcac acacggaaaa 840  
atttaatggt gttccttatg gcttgttctt gggacctaag gagctagaag aagtgggtgg 900  
tacggaagaa ttggacaagg agattcaaag aagaattaaa ttgtataata atactaaata 960  
aataaatttt gtataaaatt aatataattt aatgat 996

<210> 129

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (18)

<223>

<400> 129

atggaagctc ttctcaag

18

<210> 130

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (18)

<223>

<400> 130

accttaccta aaacattt

18

<210> 131

<211> 1045

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> promoter

<222> (1) .. (1045)

<223>

&lt;400&gt; 131

gtcgcacaggt gcatgaccaa gtaacaattt gattcctttc cagcataacg tcatgttggt	60
tgcaaaaaga aggcaaagta gagcaagcaa gcaagcaaag catttttctt attttatatt	120
ttgttgcgga ttccaccacc cacttgaaaa attgacatgt cacaatgatt tcgtatccta	180
gtctttttatt atttaacact ctcacaatcc cattactcta cacctctttc attaagtcaa	240
cacacgggtt tcaaaaatcc actaccctcc caccacctag aatcttttgt tacctaccaa	300
caccctcctt tgttctcttt atatattggt ccaactaaat caataaggga aagcatcctt	360
ttggttgagg gaattgcttt cattctcact ctttgtgtgt tgatcaatgg actagctaatt	420
aacaagttcc tcctctatat atttcaaaag aatggaacag aaacataaac gaaagacaga	480
gtacctgatg ttgatgatcc attgtctgtc tggagctccc aaatgccttt tatgcttaca	540
tattcataac caacaacggc tattaattat aaaccaaaaa cagcaaataa gtttgtagca	600
aagtgaaatt aggaatcttg gagatggatc cattagtagt aggataatag gatatgatgg	660
aatttggttg gggaacagtg ataacttacg cttgcttccg gcgccgggaa agttggaaaa	720
cctacaaaagt acagaaatgg atctgggcct tgaagtgggc tttttattaa agaaaaaat	780
acatctccgt tatcaatcac catcttcttc tatctacaaa ttaaagaagg taacaacaga	840
acgtggtgga tcatgtggtt aggcattaat tatttgcttt gtttcgccgt tttggttaaca	900
cacagacaca gttccggtaa gagcttttgc agccactctt tatagttatt tagaattggc	960
gatcgaatca atctcactcc ctccctccct taagtcttgt tgaatctgct gaattgtttt	1020
ataaagagtt actttggcac ccggg	1045

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/008623

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12P23/00 C12N15/82 A23K1/00 C12N15/63

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12P C12N A23K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, FSTA, Sequence Search

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/079395 A (CARGILL INC.) 10 October 2002 (2002-10-10) page 4, line 17 - line 30 page 22, line 22 - line 25 -----	1-71
X	EP 0 725 137 A (KIRIN BREWERY) 7 August 1996 (1996-08-07) page 7, line 3 - line 29 -----	1-69
P, X	DE 102 38 980 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 4 March 2004 (2004-03-04) '0072!-'0118!, '0195!, '0254!-'0257! -----	1-69
P, X	DE 102 53 112 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 3 June 2004 (2004-06-03) '0074!-'0086! ----- -/-	1-71

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 December 2004

Date of mailing of the international search report

27/12/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schönwasser, D

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/008623

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	DE 102 58 971 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 1 July 2004 (2004-07-01) '0020!-'0067!, '0179! -----	1-71
P,X	DE 103 00 649 A (BASF AG) 22 July 2004 (2004-07-22) '0029!-'0057!, '0076!-'0089!, '0124! -----	1-71
A	KRUBASIK P ET AL: "Molecular evolution of lycopene cyclases involved in the formation of carotenoids with ionone end groups" BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, vol. 28, no. 6, December 2000 (2000-12), pages 806-810, XP002309690 ISSN: 0300-5127 the whole document -----	1-69
A	RONEN GIL ET AL: "An alternative pathway to beta-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 97, no. 20, 26 September 2000 (2000-09-26), pages 11102-11107, XP002310093 ISSN: 0027-8424 the whole document -& DATABASE UniProt 9 October 2000 (2000-10-09), RONEN G. ET AL.: "Lycopersicon esculentum chromoplast-specific lycopene beta-cyclase mRNA, DE complete cds." XP002310094 Database accession no. AF254793 abstract -----	1-69

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/008623

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02079395	A	10-10-2002	CA 2436366 A1 EP 1377598 A2 JP 2004528839 T NO 20033353 A WO 02079395 A2	10-10-2002 07-01-2004 24-09-2004 25-09-2003 10-10-2002
EP 0725137	A	07-08-1996	AT 218162 T AU 689629 B2 AU 3231095 A CA 2174745 A1 DE 69526842 D1 DE 69526842 T2 EP 0725137 A1 WO 9606172 A1 JP 2960967 B2 KR 178871 B1 NO 961604 A US 5910433 A	15-06-2002 02-04-1998 14-03-1996 29-02-1996 04-07-2002 07-11-2002 07-08-1996 29-02-1996 12-10-1999 01-04-1999 21-06-1996 08-06-1999
DE 10238980	A	04-03-2004	DE 10238980 A1 WO 2004018688 A1 WO 2004018693 A2 WO 2004018385 A2 WO 2004018694 A2 WO 2004018695 A2 WO 2004017749 A2 WO 2004022765 A2	04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10253112	A	03-06-2004	DE 10253112 A1 WO 2004018693 A2 WO 2004018385 A2 WO 2004018694 A2 WO 2004018695 A2 WO 2004017749 A2 WO 2004022765 A2	03-06-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10258971	A	01-07-2004	DE 10258971 A1 WO 2004018688 A1 WO 2004018693 A2 WO 2004018385 A2 WO 2004018694 A2 WO 2004018695 A2 WO 2004017749 A2 WO 2004022765 A2	01-07-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10300649	A	22-07-2004	DE 10300649 A1 WO 2004063366 A1 WO 2004063359 A2 WO 2004063358 A1	22-07-2004 29-07-2004 29-07-2004 29-07-2004

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12P23/00 C12N15/82 A23K1/00 C12N15/63

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12P C12N A23K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, FSTA, Sequence Search

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/079395 A (CARGILL INC.) 10. Oktober 2002 (2002-10-10) Seite 4, Zeile 17 - Zeile 30 Seite 22, Zeile 22 - Zeile 25 -----	1-71
X	EP 0 725 137 A (KIRIN BREWERY) 7. August 1996 (1996-08-07) Seite 7, Zeile 3 - Zeile 29 -----	1-69
P,X	DE 102 38 980 A (SUNGEE GMBH & CO KGAA) 4. März 2004 (2004-03-04) '0072!-'0118!', '0195!', '0254!-'0257! -----	1-69
P,X	DE 102 53 112 A (SUNGEE GMBH & CO KGAA) 3. Juni 2004 (2004-06-03) '0074!-'0086! ----- -/-	1-71



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

## \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

10. Dezember 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

27/12/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Schönwasser, D



## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	DE 102 58 971 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 1. Juli 2004 (2004-07-01) '0020!-'0067!, '0179! -----	1-71
P,X	DE 103 00 649 A (BASF AG) 22. Juli 2004 (2004-07-22) '0029!-'0057!, '0076!-'0089!, '0124! -----	1-71
A	KRUBASIK P ET AL: "Molecular evolution of lycopene cyclases involved in the formation of carotenoids with ionone end groups" BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, Bd. 28, Nr. 6, Dezember 2000 (2000-12), Seiten 806-810, XP002309690 ISSN: 0300-5127 das ganze Dokument -----	1-69
A	RONEN GIL ET AL: "An alternative pathway to beta-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Bd. 97, Nr. 20, 26. September 2000 (2000-09-26), Seiten 11102-11107, XP002310093 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument -& DATABASE UniProt 9. Oktober 2000 (2000-10-09), RONEN G. ET AL.: "Lycopersicon esculentum chromoplast-specific lycopene beta-cyclase mRNA, DE complete cds." XP002310094 Database accession no. AF254793 Zusammenfassung -----	1-69

## INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/008623

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 02079395	A	10-10-2002	CA 2436366 A1	10-10-2002
			EP 1377598 A2	07-01-2004
			JP 2004528839 T	24-09-2004
			NO 20033353 A	25-09-2003
			WO 02079395 A2	10-10-2002
EP 0725137	A	07-08-1996	AT 218162 T	15-06-2002
			AU 689629 B2	02-04-1998
			AU 3231095 A	14-03-1996
			CA 2174745 A1	29-02-1996
			DE 69526842 D1	04-07-2002
			DE 69526842 T2	07-11-2002
			EP 0725137 A1	07-08-1996
			WO 9606172 A1	29-02-1996
			JP 2960967 B2	12-10-1999
			KR 178871 B1	01-04-1999
			NO 961604 A	21-06-1996
			US 5910433 A	08-06-1999
DE 10238980	A	04-03-2004	DE 10238980 A1	04-03-2004
			WO 2004018688 A1	04-03-2004
			WO 2004018693 A2	04-03-2004
			WO 2004018385 A2	04-03-2004
			WO 2004018694 A2	04-03-2004
			WO 2004018695 A2	04-03-2004
			WO 2004017749 A2	04-03-2004
			WO 2004022765 A2	18-03-2004
DE 10253112	A	03-06-2004	DE 10253112 A1	03-06-2004
			WO 2004018693 A2	04-03-2004
			WO 2004018385 A2	04-03-2004
			WO 2004018694 A2	04-03-2004
			WO 2004018695 A2	04-03-2004
			WO 2004017749 A2	04-03-2004
			WO 2004022765 A2	18-03-2004
DE 10258971	A	01-07-2004	DE 10258971 A1	01-07-2004
			WO 2004018688 A1	04-03-2004
			WO 2004018693 A2	04-03-2004
			WO 2004018385 A2	04-03-2004
			WO 2004018694 A2	04-03-2004
			WO 2004018695 A2	04-03-2004
			WO 2004017749 A2	04-03-2004
			WO 2004022765 A2	18-03-2004
DE 10300649	A	22-07-2004	DE 10300649 A1	22-07-2004
			WO 2004063366 A1	29-07-2004
			WO 2004063359 A2	29-07-2004
			WO 2004063358 A1	29-07-2004